

*Postverlagsort Berlin*

# **ZEITSCHRIFT**

## **FÜR INDUKTIVE ABSTAMMUNGS- UND**

# **VERERBUNGSLEHRE**

HERAUSGEGEBEN UND GELEITET

VON

**CH. AUERBACH · H. BAUER · E. HADORN · A. KÜHN**  
**G. MELCHERS · F. OEHLKERS · H. STUBBE**

**88. BAND 1. HEFT**

MIT 63 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 24. APRIL 1957)



**SPRINGER-VERLAG**  
**BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG**  
**1957**

*Preis DM 39.80*

**Ver-  
ungslehre**

# Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre

Begründet 1908. Herausgegeben von C. Correns, V. Haecker, G. Steinmann, R. v. Wettstein, Erwin Baur u. a. Band 1—81 (1944) Berlin, Gebr. Bornträger, ab Band 82 (1948) Berlin, Springer.

Die „Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Manuskripte sind unter Berücksichtigung der besonderen Arbeitsrichtung an einen der nachstehenden Herausgeber zu senden:

*Dr. Charlotte Auerbach, Institute of Animal Genetics, Kings Buildings, West Mains Road, Edinburgh/Schottland,*

*Professor Dr. Hans Bauer, Wilhelmshaven, Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Anton-Dohrn-Weg,*

*Professor Dr. Ernst Hadorn, Zürich (Schweiz), Zoologisches Institut der Universität, Künstnergasse 16,*

*Professor Dr. Alfred Kühn, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Spemannstraße 34,*

*Professor Dr. Georg Melchers, Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 41,*

*Professor Dr. Friedrich Oehlkers, Freiburg i. Br., Botanisches Institut, Schänzlestraße 9—11,*

*Professor Dr. Hans Stubbe, Gatersleben (Bezirk Halle), Institut für Kulturpflanzenforschung.*

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophoto u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Bei den Arbeiten aus Instituten, Kliniken usw. ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Von jeder Arbeit werden 75 Sonderabdrucke unentgeltlich geliefert.

Dissertationen und Habilitationsschriften werden als solche nicht in die Zeitschrift aufgenommen. Ist eine in die Zeitschrift aufgenommene Arbeit als Dissertation oder Habilitationsschrift von einer Fakultät angenommen, darf dies durch eine Fußnote vermerkt werden. Mit allen für eine Dissertations- oder Habilitationsschrift notwendigen Sonderausstattungen (besonderer Titel, Lebenslauf usw.) befaßt sich der Verlag grundsätzlich nicht, er stellt jedoch den Doktoranden bzw. Dozenten den Satz zur Verfügung zwecks Anfertigung der Dissertations- bzw. Habilitationsexemplare.

Der Autor erhält einen Unkostensatz für Originalabhandlungen und kleinere Mitteilungen von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen.

Alle Korrekturen sind an

*Professor Dr. Georg Melchers, (14b) Tübingen, Max-Planck-Institut für Biologie, Corrensstraße 41,*

alle die Zeitschrift betreffenden geschäftlichen Mitteilungen an den

*Springer-Verlag, (17a) Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 28—30*  
zu senden.

**Die geschäftsführenden Herausgeber:**

*G. Melchers  
H. Stubbe*

**Berlin W 35**

**Reichpietschufer 20  
Fernsprecher: 24 92 51**

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.



Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

## BASTARDIERUNGSVERSUCHE IN DER GATTUNG *STREPTOCARPUS* LINDL.

### VI. DIE GENISCHEN UND PLASMONISCHEN GRUNDLAGEN DER BLÜTENSCHLITZUNG VERSCHIEDENER *STREPTOCARPUS*-BASTARDE, SOWIE ÜBER DIE KONSTITUTION DES PLASMONS

Von

FRIEDRICH OEHLKERS

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 23. November 1956)

#### A. Einleitung

Von der Blütenschlitzung bei den Kreuzungen zwischen *Str. Rexii* und *Str. Wendlandii* ist in meiner ersten Arbeit (OEHLKERS 1938) schon die Rede gewesen, und danach ließ sich als genetische Grundlage des Phänomens folgendes annehmen. In dem Genom von *Str. Rexii* befindet sich ein Erbfaktor *schiz*, der sich aber in dem Plasmon von *Str. Rexii* nicht manifestieren kann. Andererseits ist das Plasmon von *Str. Wendlandii* geeignet, die Manifestation dieses Erbfaktors zuzulassen; das *Wendlandii*-Genom ist aber *schiz*<sup>+</sup> konstituiert, so daß beide Ausgangsformen selbst sympetal sind. Auch die F<sub>1</sub> der Kreuzung *Str. Wendlandii* × *Rexii* ist normal sympetal, da *schiz*<sup>+</sup> über *schiz* dominiert. In der F<sub>2</sub> findet sich ein Spaltungsverhältnis nach sympetalen Blüten:geschlitzten Blüten wie 3:1 bzw. in der Rückkreuzung mit dem rezessiven — in diesem Fall dem väterlichen — Elter, also *Str. Rexii*, wie 1:1. In der reziproken Kreuzungs- und Rückkreuzungsserie tritt die Blütenschlitzung nirgends und niemals auf; sie kann also füglich aus unserer hier gegebenen Erörterung fortbleiben.

Bei unseren früheren Untersuchungen ist schon beobachtet worden, daß nicht immer eine vollständige Choripetalie der 5 Blütenblätter bei der Schlitzung erfolgt, sondern daß es auch andere Zustände gibt und Blüten gefunden werden, die nur einen oder wenige Spalten haben, ferner, daß nicht immer die Spalten ganz bis zum Grunde gehen müssen, kurzum, es ist schon 1938 darauf aufmerksam gemacht worden, daß die Manifestation des Merkmals vermutlich labil ist. In der hier vorliegenden Arbeit sind neue Untersuchungen des Schlitzungsphänomens zusammengestellt worden. Zunächst sollte allein festgestellt werden, ob und wie weit die alten Resultate mit dem neuen Material reproduzierbar waren. Dabei haben sich eine ganze Reihe neuer Befunde von allgemeinerer Bedeutung ergeben, über die im folgenden berichtet werden soll.

#### B. Das Material

Die Arten *Str. Rexii* und *Str. Wendlandii* brauchen nicht wieder beschrieben zu werden, zumal die neu verwendeten bei OEHLKERS (1956a und b) aufgeführt worden sind. Hinzufügen möchte ich nur noch, daß ich auch *Str. Comptonii* von Dr. LAWRENCE aus der John Innes Horticultural Institution wieder bekommen habe, und daß die dort kultivierte Art genau derjenigen gleicht, die in meiner Arbeit von 1938 nach der Diagnose von MANSFELD beschrieben ist. Noch einige Einzelheiten seien angeführt: *Str. Rexii* Basel gleicht phänotypisch durchaus



*Str. Rexii* type (JIL)<sup>1</sup>, ist also auch wohl dem normalen *Str. Rexii* Lindl. gleich, sowie auch genau dem früher von mir kultivierten *Str. Rexii*, zum mindesten phänotypisch. Abb. 1 zeigt die Übereinstimmung mit OEHLKERS 1938, S. 310, Abb. 1 deutlich, vor allem das flache Auf-  
liegen der Blätter auf dem Boden. Auf die genotypischen Unterschiede wird später eingegangen werden. In der hier vorliegenden Arbeit werden nun noch weitere *Rexii*-Sippen behandelt, und im Anschluß daran auch noch einige andere Arten und deren Reaktionen im *Wendlandii*-Plasma. Zu diesen weiteren *Rexii*-Sippen gehört noch eine weiße *Str. Rexii* (JIL), die aber blaue Streifen in der Kronröhre besitzt, und endlich noch eine rein weiße Form von *Str. Rexii* (JIL), die, wie mir LAWRENCE mitteilte, eine besondere Standortsform ist und

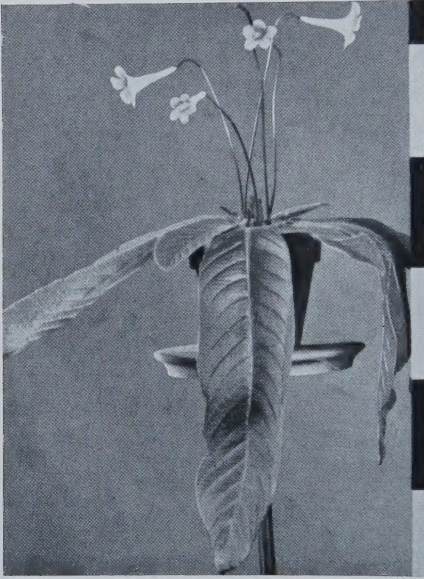


Abb. 1. *Streptocarpus Rexii* Basel. Man erkennt deutlich die Übereinstimmung mit dem *Streptocarpus Rexii*, den ich im Jahre 1938 in meiner ersten Arbeit abgebildet habe. Die Abschnitte des Maßstabes betragen hier und auf den kommenden Bildern jeweils 10 cm

keinerlei Pigment in der Blüte besitzt. Sie hat aber Vertiefungen in der Kronröhre an den Stellen, an denen sich in den Blüten anderer *Str. Rexii*-Formen die blauen Streifen befinden. LAWRENCE hat die Form als *Str. Rexii* K 1275 bezeichnet, was weiterhin auch in dieser Arbeit geschieht. Im übrigen gehören zu der *Rexii*-Gruppe im Hinblick auf eine Reihe von genetischen Reaktionen auch noch einige andere Arten, die hier mitverwendet worden sind und die im folgenden kurz beschrieben werden sollen. Dabei ist freilich zu bedenken, daß diese Beschreibung sich zum mindesten quantitativ betrachtet auf unsere Kulturweise bezieht und daß alle *Streptocarpus*arten recht modifikabel sind. Zwar wird in dieser Arbeit nur ein einzelnes Merkmal genetisch verfolgt, indessen gebe ich hier dennoch eine einigermaßen vollständige Beschreibung, weil die sehr verschiedenen Formen, die ich von LAWRENCE erhalten habe, noch in anderen Arbeiten wieder auftauchen werden und dann einer erneuten Beschreibung nicht mehr bedürfen. Wir gehen in alphabetischer Reihenfolge vor.

*Streptocarpus Baudertii* Britten (JIL). Rosulate Art mit 5—6 Blättern bei Beginn der Blüte. Blattgröße:  $8 \times 2,5$ ;  $7 \times 4$ ;  $4 \times 3$  und kleinere. Die Blätter sind sehr steif und oftmals gestielt. Die Unterseite der Blätter

hat Anthocyan in den Blattrippen ausgebildet; die eigentliche Lamina ist grün. Die Infloreszenzen stehen in den Blattachseln, Länge etwa 7 cm, sie tragen 1—3, meistens 2 Blüten. Die Kronröhre ist schmal und stark gebogen. Die Unterlippe setzt die Richtung der Röhre fort, die Blütenfarbe ist leuchtend blau, das Mittelfeld violettgestreift, der Schlund weiß; ein gelber Fleck ist nur ganz schwach ausgebildet, die Blütengröße  $3,5 \times 3^2$  (vgl. Abb. 2). Die Nachkommenschaft der ersten Pflanzen war nicht ganz konstant, sie variiert nach der Blütenfarbe und der Blütengröße ein wenig.

*Streptocarpus cyaneus* Moore (JIL). Rosulate, sehr vielblättrige Art, deren Blätter schräg aufwärts stehen. Die Blattgröße  $16 \times 3$ ,  $14 \times 3$  und sehr viel kleiner. Die Blätter sind rein grün, auf der Unterseite kein Anthocyan. Infloreszenzhöhe etwa 10—12 cm und kleiner, ein-

<sup>1</sup> Es sei daran erinnert, daß die Abkürzung JIL die Herkunftsbezeichnung ist und „John Innes Horticultural Institution Abteilung LAWRENCE“ bedeutet. Eine ungemein fesselnde, aber leider nur kurze Darstellung von Heimat und Lebensweise der *Streptocarpus*arten gibt LAWRENCE in „The Genus *Streptocarpus*“.

<sup>2</sup> Die Blütengröße wird stets so gemessen wie bei OEHLKERS 1938, S. 313 angegeben. Dabei bedeutet die erste Zahl die Länge der Kronröhre, die zweite die Breite der Blüte. Alle Maßangaben, auch wenn es nicht ausdrücklich vermerkt ist, sind in Zentimetern.



bis zweiblütig. Die Blütengröße beträgt  $4,2 \times 3,4$ . Die Blütenfarbe ist hellrot mit rötlich blauen Streifen im Mittelfeld und einem gelben Fleck im Schlund. Die Kronröhre ist gestreckt (vgl. Abb. 3).

*Streptocarpus Gardenii* Hook. (JIL). Rosulate Art mit recht zahlreichen dunkelgrünen Blättern, die einen scharfgezähnten Rand haben und schräg stehen. Anthocyan auf der Unterseite allein in den Blattrippen und zwar findet sich an der Blattbasis eine stärkere Färbung als an der Spitze. Bei Blütenbeginn finden sich bis zu 12 Blättern in der Rosette.

Blattgröße  $28 \times 7,5$ ;  $23 \times 6$  und kleiner. Die Länge der Infloreszenz beträgt zwischen 10 und 13 cm; sie ist fast ausschließlich einblütig, kaum jemals sind 2 Blüten an einer Infloreszenz vorhanden. Blütengröße  $5,2 \times 3,5$ . Die Blüten sind hellviolett mit dunklen Streifen im Mittelfeld und einem intensiv gelbgrünen Fleck im Schlund. Auch die Kronröhre, die gestreckt ist, besitzt gelbgrüne Farbe (vgl. Abb. 4).



Abb. 2. *Streptocarpus Baudertii*

*Streptocarpus Meyeri* Burt (JIL). Rosulate Art mit flachliegenden hellgrünen und anthocyanfreien Blättern. Blattgröße:  $14 \times 6$ ,  $9 \times 6$  und kleiner. Infloreszenzhöhe 10–15 mit je 2 Blüten an der Infloreszenz. Die Blüten sind klein,  $3 \times 2$  bis 2,2, haben eine blaue Kronröhre,



Abb. 3. *Streptocarpus cyaneus*

weiße Zipfel und ganz geringe Streifung. Die Kronröhre ist gestreckt und kaum gebogen (vgl. Abb. 5).

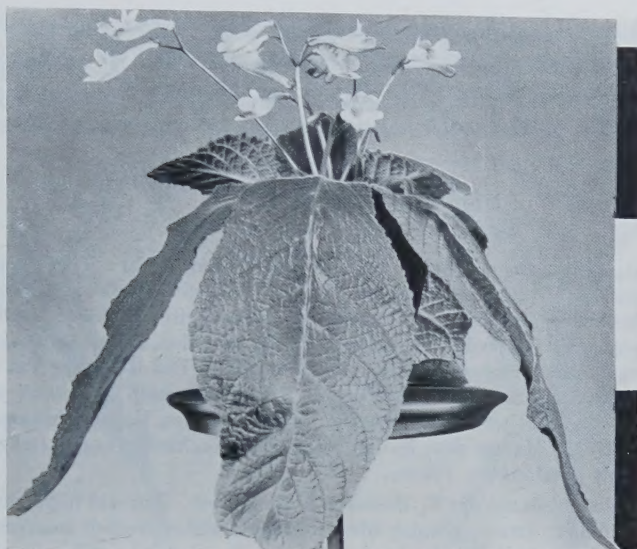
*Streptocarpus Michelmorei* Burt (JIL). Unifoliate vernalisationsbedürftige Art. Blüht meist erst nach einem Kälteschock in der zweiten Vegetationsperiode, oder bei kühler Kultur unmittelbar im Anschluß an die erste. Blattgröße  $37 \times 25$  und größer. Die Blattfarbe auf der Ober- und Unterseite ist rein grün. Das Blatt ist etwas aufgebogen, ähnlich wie bei



Abb. 4. *Streptocarpus Gardenii*Abb. 5. *Streptocarpus Meyeri*

Abb. 6. *Streptocarpus Michelmorci*. Die Spitze des Blattes ist etwas mitgenommen. Es liegt daran, daß die Vernalisation, die die Pflanze zur Blühbereitschaft nötig hat, ein bißchen massiv ausgefallen ist. Dann werden bei verschiedenen *Streptocarpus*-Arten die Blattspitzen leicht abgestoßen

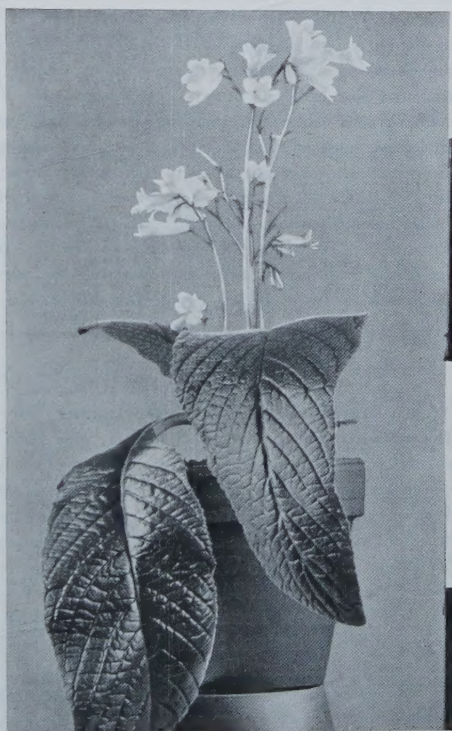


Abb. 7. *Streptocarpus montigena*

*Str. Wendlandii*, indessen mit einem sehr kurzen Hypokotyl. Die Pflanze sitzt also direkt dem Boden auf; das eine Blatt, der Cotyledon, biegt sich aber in einem Bogen davon weg. In der Blattachsel entwickeln sich außerordentlich reichblütige Infloreszenzen in serialer Anordnung hintereinander, die schon in geringer Höhe anfangen zu blühen. An sehr alten Pflanzen können einige Adventivblätter entstehen. Die Infloreszenzlänge beträgt 6—25 cm, die Blütengröße  $3,2 \times 2,4$ . Die Kronröhre ist gestreckt, die Blütenzipfel dunkelblau mit einem noch dunkleren Mittelfeld, in dessen Inneren sich ein gelber Fleck befindet (vgl. Abb. 6).

*Streptocarpus montigena* Britten (JIL). Rosulate Art mit recht großen, weichen und sehr stark behaarten Blättern. Bei Beginn der Blüte sind ungefähr 4—5 Blätter vorhanden. Blattgrößen  $27 \times 9$ ,  $30 \times 16$  und geringer. Die Blattfarbe ist besonders hellgrün. Die Unterseite der Blätter ist rein grün, kein Anthocyan ausgebildet. Infloreszenzen in den Blattachseln sind 2—5blütig, die Vierzahl ist meist vorherrschend. Die Kronröhre ist lang und gestreckt. Blütengröße  $4,6 \times 2,9$ . Farbe weiß mit leicht violetter Anflug und einem deutlichen gelben Fleck auf dem Mittelfeld, keine Streifung (vgl. Abb. 7).

*Streptocarpus parviflorus* Hook et E. Mey (JIL). Rosulate Art mit schräg aufwärts stehenden Blättern. Die Blattgröße beträgt  $33 \times 9$ ,  $23 \times 7$  und kleiner, die Infloreszenzlänge bis zu 16 cm. Blüten je Infloreszenz 5—9. Die Blütengröße beträgt  $2,6 \times 2,4$ . Die Blüten sind rein weiß mit leicht violetter Streifung im Mittelfeld und einem erkennbaren

Abb. 8. *Streptocarpus parviflorus*



gelben Fleck. Leichte Anthocyanfärbung auf der Blattunterseite, an den Blattrippen (vgl. Abb. 8). *Str. parviflorus* setzt bei Selbstbestäubung schlecht an und wird gerne vegetativ aus Blattstecklingen vermehrt. Infolgedessen ist die ganze Kollektion, die wir hier haben, nicht ganz einheitlich, sondern Nachkommen aus Samen spalten besonders nach der Blattbreite deutlich.

## C. Experimentelle Ergebnisse

### 1. Die $F_1$ -Pflanzen

Um die Blütenschlitzung zu untersuchen, ist es notwendig, von allen Formen  $F_1$ -Pflanzen mit *Str. Wendlandii* oder *Str. Comptonii* als Mutter herzustellen und mindestens bis zur  $F_2$  bzw. der Rückkreuzung ( $R_1$ ) mit dem väterlichen Elter weiterzuführen. Selbstverständlich sind die  $F_1$ -Kreuzungen reziprok auszuführen, um festzustellen, ob auch alle neuverwendeten Arten dieselbe reziproke Differenz ergeben, wie *Str. Rexii*. Das ist in der Tat der Fall; über die Geschlechtsreaktion aller neu einbezogenen Arten außerhalb *Str. Rexii* werden wir an anderer Stelle später noch berichten. Für den hier gegebenen Vorsatz reichen die Bastarde mit *Str. Wendlandii* als Mutter aus: in den reziproken Nachkommenschaftsfolgen entstehen keine Pflanzen mit geschlitzten Blüten.

Eine genaue Beschreibung der  $F_1$ -Bastarde erübrigt sich. Nur auf folgendes sei kurz verwiesen: a) es dominiert immer rosulat über unifoliat, wobei freilich insofern eine gewisse intermediäre Gestaltung besteht, als das 1. Blatt der  $F_1$  erheblich größer ist als die übrigen. Allerdings ist es ja so, daß auch bei den rosulaten Formen, wie aus der Beschreibung hervorging, die jüngeren Blätter laufend kleiner werden. Man könnte also geneigt sein, lediglich die Größe als intermediär anzusehen, und das Kleinerwerden als eine Eigenschaft der rosulaten. Immerhin ist die Differenz zwischen dem ersten Blatt und den folgenden Blättern eine größere bei den  $F_1$ -Bastarden mit dem unifoliaten *Str. Wendlandii*, als bei den reinen rosulaten. b) Es ist zu konstatieren, daß die anthocyanhaltige Unterseite von *Str. Wendlandii* über die nichtanthocyanhaltigen Unterseiten in der  $F_1$  dominiert. c) Es besteht eine intermediäre Gestaltung der Infloreszenzen. Diejenigen der  $F_1$  sind nie so geringblütig wie bei den verschiedenen rosulaten Arten und nie so reichblütig wie bei *Str. Wendlandii*. Im allgemeinen sind die Infloreszenzen symmetrisch gebaut, genau wie bei *Str. Wendlandii*; die einzige Ausnahme, die hinsichtlich dieses Merkmals auch noch weiter verfolgt werden soll, ist *Str. Baudertii*, bei dem der  $F_1$ -Bastard mit *Str. Wendlandii* — reziprok gleich — eine ausgesprochen asymmetrische Infloreszenz besitzt. Mehr über die  $F_1$  auszusagen, ist nicht notwendig. Es werden in späteren Arbeiten noch einige Merkmale weiterverfolgt und sofern die  $F_1$  dabei eine Rolle spielt, wird sie dann genauer geschildert werden. So wird auch einmal die Vererbung der Blütenfarbe, insbesondere des gelben Flecks im Mittelfeld der Kronröhre, behandelt werden.

### 2. Die Genetik der Blütenschlitzung

a) Ergebnisse für die Beurteilung der Zahlenverhältnisse aus der Rückkreuzung der *Wendlandii-Rexii-F<sub>1</sub>* mit *Rexii*. Für die Bearbeitung der Blütenschlitzung wurden dieselben Kreuzungen verwendet wie in der vorhergehenden Arbeit (OEHLKERS 1956 b), nämlich die Rückkreuzungen mit ursprünglichen Kälte- und Wärmepflanzen der  $F_1$  von *Str. Wendlandii*  $\times$  *Rexii*, die in der eben genannten Arbeit des Geschlechtsverhaltens wegen bearbeitet worden waren. Wir stellen sie wieder genau so zusammen wie vorher. Es sei kurz wiederholt: 73/1954; 14, extreme Wärmepflanze, *Streptocarpus* [(*Wendlandii* München  $\times$  *Rexii* Basel)  $\times$  *Rexii* Basel] und Nr. 74/1954; 41, extreme Kältepflanze, *Streptocarpus* [(*Wendlandii* München  $\times$  *Rexii* Basel)  $\times$  *Rexii* Basel]. Am 24. 3. 54 wurden die Nachkommenschaften in 3 Teile aufgeteilt: Teil A kommt in die Wärmeabteilung des großen *Streptocarpushauses*, befindet sich also ständig in einer Temperatur höher als 20°, Teil B kommt in die kühlere Abteilung des großen Gewächshauses und ist einer gemäßigten Temperatur zwischen 15 und 18° ausgesetzt, Teil C endlich kommt in die Kältekammer mit 10—12° C und 16stündiger Belichtung. Diese Pflanzen wurden nun für diese Arbeit nach dem Aufblühen auch auf die Blütenschlitzung hin untersucht.

Bei der Bearbeitung stellte sich nun heraus, daß sich das neue Material, also *Str. Rexii* Basel, keineswegs so verhält, wie der in unserer früheren Arbeit be-



schriebene *Str. Rexii*, sondern eine Spaltung zeigte, die zwangloser als eine bifaktorielle anzusehen ist. Wir fassen unsere Ergebnisse in Tabelle 1 zusammen.

Daraus geht nun mit Deutlichkeit hervor, daß die Gesamtschlitzung dieser Rückkreuzung hier kein 1:1-Verhältnis zeigt, sondern ein 1:3-Verhältnis, was



Abb. 9

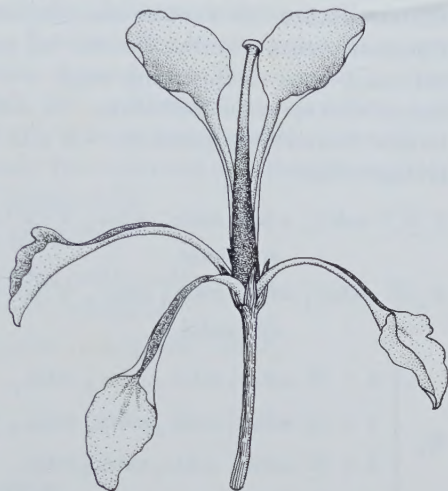


Abb. 10

Abb. 9. Zum Teil geschlitzte Blüte aus der Kreuzung 1936, 139 *Streptocarpus* [(*Wendlandii* × *Rexii* Lindl.) × *Rexii* Lindl. × *Wendlandii*] (aus OEHLKERS 1938, S. 351, Abb. 25 a)

Abb. 10. Total geschlitzte Blüte aus der Kreuzung 1936; 120 *Streptocarpus* [(*Wendlandii* × *Rexii* Lindl.) × *Rexii* Lindl.] (aus OEHLKERS 1938, S. 355, Abb. 27)

geschlitzt und ungeschlitzt anlangt; ferner, daß bei der hier verwendeten *Rexii*-Rasse eine Aufteilung in Pflanzen mit sympetalen, zum Teil geschlitzten und

total geschlitzten Blüten möglich ist. Wir haben es hier

mit einem klaren 1:2:1-Ver-

hältnis für die 3 Kategorien

bei der Rückkreuzung zu tun.

Das läßt auf das Vorhanden-

sein einer bifaktoriellen ge-

mischen Grundlage schließen.

Einer statistischen Sicherung

bedarf es nicht bei diesen

guten Zahlen. Wir werden

später sehen, ob und wie von

hier aus die anderen Resultate,

die wir früher publiziert haben,

erklärbar sind. In unserer

früheren Arbeit nämlich

(OEHLKERS 1938) hatte die

Blütenschlitzung zwar einiger-

maßen klare 3:1 Spaltungs-

zahlen bzw. bei der Rück-

kreuzung solche von 1:1 ergeben, indessen war auch damals bereits — wie oben

schon erwähnt — die Tatsache aufgefallen, daß Blüten zu finden waren, die zum

Tabelle 1

	Pflanzen mit			Zahl der Pflanzen
	sym- petalen Blüten	zum Teil geschlitz- ten Blüten	total ge- schlitzten Blüten	
14 A	24 36,4%	34 51,5%	8 12,1%	66
41 A	17 23,6%	35 48,6%	20 27,8%	72
14 B	15 20%	35 46,7%	25 33,3%	75
41 B	17 25,2%	32 47,8%	18 24,0%	67
14 C	22 36,0%	26 42,6%	13 21,4%	61
41 C	30 34,0%	38 43,2%	20 22,8%	88
Summe	125 29,2% 1	200 46,6% 2	104 24,2% 1	429

schon erwähnt — die Tatsache aufgefallen, daß Blüten zu finden waren, die zum



Teil geschlitzt und solche, die total geschlitzt waren (vgl. Abb. 9 und 10). In diesen Rückkreuzungen, die wir hier darstellen, wurde es vollkommen klar, daß sich das Schlitzungsverhältnis der Blüten *nach Pflanzen* gruppieren ließ, nach solchen also, die zum Teil geschlitzte Blüten und solchen, die total geschlitzte<sup>1</sup> Blüten besaßen. Es war hier also möglich, eine Gruppierung unter den geschlitzten Pflanzen herbeizuführen, die sich bei unseren früheren Befunden nicht erkennen ließ, und diese Gruppierung zeigt, wie gesagt, eine gute Übereinstimmung mit einem bifaktoriellen Verhältnis. In dem folgenden Schema haben wir eine faktorielle Darstellung gemacht, wie sich die ganze Angelegenheit möglicherweise erklären läßt.

$$\begin{array}{l}
 P \begin{array}{c} \boxed{W}^2 \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_2^+ \text{schiz}_2^+ \\ \text{sympetal} \end{array} \times \begin{array}{c} \boxed{R}^2 \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1 \text{schiz}_1 \text{schiz}_2 \text{schiz}_2 \\ \text{sympetal} \end{array} \\
 F_1 \begin{array}{c} \boxed{W} \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_2^+ \text{schiz}_2^+ \\ \text{sympetal} \end{array} \times \begin{array}{c} \boxed{R} \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1 \text{schiz}_1 \text{schiz}_2 \text{schiz}_2 \\ \text{sympetal} \end{array} \\
 R_1 \left\{ \begin{array}{ll} 1 \times \begin{array}{c} \boxed{W} \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_2^+ \text{schiz}_2^+ \\ \text{sympetal} \end{array} & 1 \\ 1 \times \begin{array}{c} \boxed{W} \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_1^+ \text{schiz}_2 \text{schiz}_2 \\ \text{sympetal} \end{array} & : \\ 1 \times \begin{array}{c} \boxed{W} \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1 \text{schiz}_1 \text{schiz}_2^+ \text{schiz}_2^+ \\ \text{sympetal} \end{array} & 2 \\ 1 \times \begin{array}{c} \boxed{W} \\ \text{sympetal} \end{array} \begin{array}{c} \text{schiz}_1 \text{schiz}_1 \text{schiz}_2 \text{schiz}_2 \\ \text{sympetal} \end{array} & : \end{array} \right\} \begin{array}{l} \text{zum Teil geschlitzt} \\ \text{total geschlitzt} \end{array}
 \end{array}$$

Die oben angeführten Zahlenergebnisse der Rückkreuzungen stimmen, wie wir sahen, gut mit dieser Formulierung überein.

**b) Ergebnisse für die Beurteilung der Zahlenverhältnisse aus der  $F_2$  des *Wendland-Rexii*-Bastardes.** Wenn die im vorigen Abschnitt gegebenen Formulierungen zutreffen, dann müssen sie sich auch an den Spaltungs-Resultaten der  $F_2$  des Bastardes *Str. Wendlandii*  $\times$  *Rexii* Basel aufweisen lassen. Nun ist aber dieser Bastard bekanntlich männlich steril, eine der  $F_2$  entsprechende Nachkommenschaft kann man also nur aus einer Geschwisterkreuzung der beiden reziprok verschiedenen Bastarde gewinnen. Wir haben sie im Jahre 1955 aufgezogen, es ist das die Kreuzung Nr. 75/1953; 56, *Str. (Wendlandii*  $\times$  *Rexii* Basel)  $\times$  (*Rexii* Basel  $\times$  *Wendlandii*). Auf die sonstigen Spaltungsverhältnisse und Einzelheiten dieser Kreuzung gehen wir hier nicht ein, weil sie noch in einem anderen Zusammenhang wieder erscheinen wird und dabei zugleich ihre Spaltungen eingehender behandelt werden müssen. Hier kommt es uns allein auf die Blütenschlitzung an. Dieses Verhältnis stellt sich folgendermaßen dar: Auf 175 Pflanzen sind 129 sympetal, 33 zum Teil geschlitzt und 13 total geschlitzt. In Prozenten betrüge dies: 73,7% sympetale und 26,3% geschlitzte, wobei die zum Teil geschlitzten und total geschlitzten zusammengerechnet werden. Man würde dieses Zahlen-

<sup>1</sup> Es sei ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß hier der Ausdruck „total geschlitzt“ nicht in dem Sinn verwendet wird, daß an sämtlichen Blüten dieser Pflanzen unter allen Umständen alle 5 Kronblätter frei wären, wie das in Abb. 10 dargestellt ist. Eine gewisse labile Manifestation ist auch hier zu konstatieren. Der Ausdruck soll nur besagen, daß alle Blüten geschlitzt und die meisten mit 5 freien Kronblättern versehen sind, so daß sich die in dieser Gruppe zusammengefaßten Pflanzen einwandfrei von den anderen, den „zum Teil geschlitzten“ unterscheiden lassen.

<sup>2</sup> Die in die Quadrate gesetzten Buchstaben  $\boxed{W}$  und  $\boxed{R}$  bedeuten das jeweilige Plasmon.



verhältnis normalerweise ohne weiteres einem solchen von 3:1 zugeordnet haben. Da sich aber in diesen Versuchen mit *Str. Rexii* Basel durchaus auch in der  $F_2$  die Pflanzen mit zum Teil geschlitzten Blüten und mit total geschlitzten Blüten unterscheiden lassen, so konnte man an die Beziehung von einem Hauptgen und einem Modifikator denken. Das ist trotz des Zahlenverhältnisses allein schon deshalb unwahrscheinlich, weil die klaren Resultate der Rückkreuzung vorliegen. Darum muß geprüft werden, ob sich nicht dennoch eine Homogenität mit dem bifaktoriell-additiven Verhältnis herstellen läßt; zahlenmäßig ausgedrückt heißt das, ob das Zahlenverhältnis von 129:33:13 noch dem Verhältnis von 11:4:1 homogen ist. Das ist, wie die nachfolgende Formulierung und Berechnung zeigt, tatsächlich der Fall: der  $P$ -Wert für  $\chi^2$  beträgt 0,22.

Formulierung für die  $F_2$ 

$$P \quad \boxed{W} \quad schiz_1^+ schiz_1^+ schiz_2^+ schiz_2^+ \times \boxed{R} \quad schiz_1^- schiz_1^- schiz_2^- schiz_2^-$$

sympetal ↓ sympetal

$$F_1 \quad \boxed{W} \quad schiz_1^+ schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^- \times \boxed{R} \quad schiz_1^+ schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^-$$

$$\left. \begin{array}{l} 1 \quad schiz_1^+ schiz_1^+ schiz_2^+ schiz_2^+ \\ 2 \quad schiz_1^+ schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^+ \\ 2 \quad schiz_1^+ schiz_1^+ schiz_2^+ schiz_2^- \\ 4 \quad schiz_1^+ schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^- \\ 1 \quad schiz_1^+ schiz_1^+ schiz_2^- schiz_2^- \\ 1 \quad schiz_1^- schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^+ \end{array} \right\} \begin{array}{l} \swarrow \\ \\ \\ \\ \\ \end{array} \left. \begin{array}{l} 2 \quad schiz_1^+ schiz_1^- schiz_2^- schiz_2^- \\ 2 \quad schiz_1^- schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^- \\ 1 \quad schiz_1^- schiz_1^- schiz_2^- schiz_2^- \end{array} \right\}$$

11 sympetal

4 zum Teil geschlitzt

1 total geschlitzt

gefunden 129:33:13 175

erwartet 120:44:11 175

$$\chi^2 = 3,788 \quad FG = 2 \quad P = 0,22.$$

Zu diesem Berechnungsergebnis ist noch folgendes zu bemerken: Wir haben die Kombinationen  $schiz_1^+ schiz_1^- schiz_2^- schiz_2^-$  und  $schiz_1^- schiz_1^- schiz_2^+ schiz_2^+$  mit unter die sympetalen gerechnet, das heißt also, es setzt voraus, daß die jeweils doppelt dominanten des einen *schiz*-Faktors über die doppelt rezessiven des anderen epistatisch sind. Dadurch allein ist es möglich, ein 11:4:1-Verhältnis anzunehmen. Es sei darauf hingewiesen, daß das darum annehmbar ist, weil diese Kombinationen in der Rückkreuzung nicht auftreten und also dort keine Rolle spielen können. So angesehen, geht aus dem Berechnungsergebnis hervor, daß die erwarteten und gefundenen Zahlen durchaus noch als homogen zu betrachten sind; eine gesicherte Differenz ist keinesfalls vorhanden. Die anscheinend starke Annäherung an ein 3:1-Verhältnis bei Zusammenrechnung der Pflanzen mit zum Teil und total geschlitzten Blüten in der  $F_2$  muß doch wohl auch auf die zu geringe Anzahl aufzogener Pflanzen zur exakten Unterscheidung eines 3:1-, 11:4:1- und 9:3:3:1-Verhältnisses zurückzuführen sein. So ist noch nach zusätzlichen Beweisen Umschau zu halten. Diese sind möglicherweise in den Zahlenverhältnissen enthalten, die aus weiteren Rückkreuzungen gewonnen werden können.



c) Die Zahlenverhältnisse der nächsten Rückkreuzungs-Generation. Es erhebt sich also nun die Frage, wie die einzelnen aus ersten Rückkreuzungen bzw. aus der  $F_2$  herausspaltenden Typen sich in weiteren Rückkreuzungen verhalten. Wir haben davon die total geschlitzten und die zum Teil geschlitzten verwendet. In der nachfolgenden Tabelle 2 sind die Resultate zusammengestellt.

Tabelle 2

Kreuzung	Sympetale	Zum Teil geschlitzte	Total geschlitzte	Anzahl der Pflanzen
Nr. 76, 1954; 177a Str. [(( <i>Wendlandii</i> München × <i>Rexii</i> Basel) × ( <i>Rexii</i> Basel × <i>Wendlandii</i> München)) total geschlitzt × <i>Rexii</i> Basel]	—	2	55	57
Nr. 77, 1954; 105 Str. [(( <i>Wendlandii</i> München × <i>Rexii</i> Basel) × <i>Rexii</i> Basel) total geschlitzt × <i>Rexii</i> Basel] . . . . .	1	—	37	38
Nr. 78, 1954; 177b Str. [(( <i>Wendlandii</i> München × <i>Rexii</i> Basel) × ( <i>Rexii</i> Basel × <i>Wendlandii</i> München)) zum Teil geschlitzt × <i>Rexii</i> Basel] . . . . .	12	18	17	47
Nr. 79, 1954; 105 Str. [(( <i>Wendlandii</i> München × <i>Rexii</i> Basel) × <i>Rexii</i> Basel) zum Teil geschlitzt × <i>Rexii</i> Basel] . . . . .	1	8	15	24

Aus diesem Ergebnis erkennt man, daß besonders die Rückkreuzungen mit den total geschlitzten Pflanzen den Erwartungen der Hervorbringung einer total geschlitzten Nachkommenschaft am genauesten entspricht. Selbst wenn man die eine sympetale Pflanze in Kreuzung Nr. 77 *nicht* als Fehler ansieht, sondern labiler Manifestation zuweist, ist ein entscheidender Unterschied gegenüber der zweiten Gruppe von Rückkreuzungen zu erkennen mit den zum Teil geschlitzten Pflanzen. In beiden Kreuzungen, 78 und 79, finden sich in der Nachkommenschaft beide Typen von Pflanzen: zum Teil geschlitzte und total geschlitzte etwa im Verhältnis von 1:1, so wie theoretisch erwartet. Muß man aber selbst bei dieser relativ klaren Spaltung dennoch einiges labiler Manifestation zurechnen, dann ist auch die Erwartung durchaus konsequent, daß als Nachkommen der zum Teil geschlitzten Pflanzen mehr sympetale Abweicher auftreten können, als unter der Nachkommenschaft der total geschlitzten. Das ist in der Tat der Fall. Leider ist in den Auszählungen bei den Rückkreuzungen die Zahl der Blüten, die von den einzelnen Pflanzen dafür verwendet wurden, oftmals etwas gering. Wäre die Auszählung etwas ausführlicher zu machen gewesen, so hätte sich die eine oder andere Korrektur wohl noch von selbst eingestellt.

Auf das Ganze gesehen haben wir aber bei der Kreuzung von *Str. Wendlandii* mit *Str. Rexii* Basel ein *dihybrides* und zwar *additives Spaltungsverhältnis* für das *Blütenschlitzungsphänomen* anzunehmen.

d) Die Zahlenverhältnisse bei anderen Kreuzungen, die ebenfalls *Blütenschlitzung* zeigen. Nach diesem klaren Ergebnis muß die Frage gestellt werden, wie meine früheren Befunde eines einfachen monohybriden Verhältnisses zu verstehen sind. Leider ist der alte *Str. Rexii* nicht mehr vorhanden und kann also nicht erneut experimentell bearbeitet werden. So bleibt nichts anderes übrig, als sich aus den Resultaten anderer Kreuzungen ein Bild davon zu machen, wie die früheren Ergebnisse zustande gekommen sind. Festzuhalten ist, daß total geschlitzte



Tabelle 3

Kreuzung	Blütenzustand			Gesamt- zahl der Pflanzen
	sympetal	zum Teil geschlitzt	total geschlitzt	
Nr. 80, 1955; 142 <i>Str.</i> ( <i>Wendlandii</i> Freiburg $\times$ <i>Baudertii</i> ) . . . . .	alle sympetal			47
Nr. 81, 1954; 102 <i>Str.</i> [( <i>Wendlandii</i> $\times$ <i>Baudertii</i> ) $\times$ <i>Baudertii</i> ] . . . . .	34	13	—	
%	72%	28%		
Verhältnis	2,9	1,1		
Nr. 82, 1954; 64 <i>Str.</i> ( <i>Comptonii</i> $\times$ <i>gardenii</i> ) . . . . .	alle sympetal			48
Nr. 83, 1955; 101 <i>Str.</i> [( <i>Comptonii</i> $\times$ <i>gardenii</i> ) $\times$ <i>gardenii</i> ] . . . . .	33	12	3	
%	69%	25%	6%	
Verhältnis	2,8	1	0,2	
	2,8	1,2		
Nr. 84, 1954; 45 <i>Str.</i> ( <i>Wendlandii</i> Freiburg $\times$ <i>Meyeri</i> ) . . . . .	alle sympetal			36
Nr. 85, 1955; <i>Str.</i> [( <i>Wendlandii</i> $\times$ <i>Meyeri</i> ) $\times$ <i>Meyeri</i> ] . . . . .	16	16	4	
%	45%	45%	11%	
Verhältnis	1,8	1,8	0,4	
	1,8	2,2		
Nr. 86, 1953; 28 <i>Str.</i> ( <i>Wendlandii</i> Freiburg $\times$ <i>Rexii</i> K 1275) . . . . .	alle sympetal			38
Nr. 87, 1954; 101a <i>Str.</i> [( <i>Wendlandii</i> $\times$ <i>Rexii</i> K 1275) $\times$ <i>Rexii</i> K 1275] . . . . .	13	20	5	
%	34%	53%	13%	
Verhältnis	1,4	2,1	0,5	
	1,4	2,6		
Nr. 88, 1952; 21 <i>Str.</i> ( <i>Wendlandii</i> München $\times$ <i>Michelmerei</i> ) . . . . .	alle sympetal			45
Nr. 89, 1953; 51 <i>Str.</i> [( <i>Wendlandii</i> $\times$ <i>Michelmerei</i> ) $\times$ <i>Michelmerei</i> ] . . . . .	15	28	2	
%	34%	62%	4%	
Verhältnis	1,3	2,5	0,2	
	1,3	2,7		
Nr. 90, 1953; 31 <i>Str.</i> ( <i>Wendlandii</i> Freiburg $\times$ <i>parviflorus</i> ) . . . . .	alle sympetal			22
Nr. 91, 1954; 103 <i>Str.</i> [( <i>Wendlandii</i> $\times$ <i>parviflorus</i> ) $\times$ <i>parviflorus</i> ] . . . . .	5	8	9	
%	23%	36%	41%	
Verhältnis	0,9	1,5	1,6	
	0,9	3,1		
Nr. 92, 1954; 35 <i>Str.</i> ( <i>Wendlandii</i> Freiburg $\times$ <i>montigena</i> ) . . . . .	12	6	—	18
%	67%	33%		
Verhältnis	2	1		
Nr. 93, 1955; 207 <i>Str.</i> [( <i>Wendlandii</i> $\times$ <i>montigena</i> ) $\times$ <i>montigena</i> ] . . . . .	8	15	20	43
%	18%	35%	47%	
Verhältnis	0,7	1,4	1,9	
	0,7	3,3		

und zum Teil geschlitzte Blüten auch in meiner früheren Arbeit (OEHLKERS 1938), wie die Abb. 9 und 10 zeigten, gefunden wurden. Es fragt sich nun, ob das oftmals schwankende Verhältnis beider Ausbildungsweisen durch labile Manifestation zu

erklären sei, und sodann, ob auf der Basis einer monohybriden oder additiv dihybriden Anordnung von Erbfaktoren.

Zunächst geben wir eine Übersicht über alle unsere Kreuzungen, die wir zur Klärung dieser Fragen gemacht haben. Es sind die eingangs angeführten Arten dafür verwendet und wir stellen sie in der Tabelle 3 übersichtlich zusammen.

Zu der Tabelle 3 ist noch folgendes zu sagen. Einmal: die *Wendlandii*-Linien sind nicht in allen Fällen die gleichen. So ist *Str. Michelmerei* mit *Str. Wendlandii* „München“ gekreuzt worden. Die übrigen Kreuzungen mit *Str. Wendlandii* sind freilich alle mit der von mir als *Str. Wendlandii* „Freiburg“ bezeichneten durchgeführt. Einmal wurde *Str. Comptonii* (*Str. gardenii* setzt in der Kreuzung mit *Str. Wendlandii* nur sehr schwer an!) verwendet, der ja durchaus die plasmonischen Eigenschaften von *Str. Wendlandii* besitzt, aber dessen Gensortiment natürlich ein ganz anderes ist. Bezüglich der Zahlen ist noch zu bemerken, daß alle  $F_1$ -Bastarde durchgehend bei uns in der Zahl von etwa 15—20 aufgezogen werden; gewiß nicht übermäßig viel. Bei Gewächshauspflanzen muß man immerhin etwas auf den Platz sehen. Die Zahlen der  $R_1$ -Pflanzen sind verschieden und darum in die Tabelle eingetragen. Sodann ist zu bemerken, daß in der ersten Zeile hinter jeder  $R_1$  die absoluten Zahlen aufgeführt sind, in der zweiten die Prozentzahlen, in der dritten die Zahlenverhältnisse und in der vierten gegebenenfalls die Zahlenverhältnisse unter Zusammenrechnung der Pflanzen mit zum Teil und total geschlitzten Blüten.

Es lassen sich also die meisten der in Tabelle 3 zusammengestellten Kreuzungen durchaus miteinander vergleichen, und dabei zeigt sich, daß die verschiedenartigsten Zahlenverhältnisse zu finden sind. Bemerkenswert ist, daß sich in den Kreuzungen Nr. 84 und 85, denjenigen mit *Str. Meyeri*, ein deutliches 1:1-Verhältnis in der  $R_1$  zwischen Pflanzen mit sympetalen und solchen mit geschlitzten Blüten (auch beide Kategorien zusammengerechnet) genau so wie 1938 findet. Ferner, daß von Kreuzung 86 bis 91 Zahlenverhältnisse vorhanden sind, die in der  $R_1$  dem von 1:2:1 für alle 3 Klassen durchaus nahekommen. Bei den vorhergehenden Kreuzungen sind in der entsprechenden  $R_1$  zu wenig Pflanzen mit geschlitzten Blüten vorhanden, in der Kreuzung 92—93 zu viel. Dazu kommt, daß bei der letzten Kreuzung mit *Str. montigena* bereits in der  $F_1$  — nicht uniform, sondern in einem unklaren Zahlenverhältnis — die *Blütenschlitzung* auftritt. Das heißt also, daß in dieser Zusammenstellung die Penetranz des *schiz*-Gens sogar in eine labile Dominanz gegenüber *schiz*<sup>+</sup> übergeht. Und daraus ist dann auch das absurde Zahlenverhältnis der zugehörigen  $R_1$  zu verstehen. Alles in allem ist nicht zu bezweifeln, daß die labile Manifestation der Gene für das Schlitzungsphänomen außerordentlich bemerkenswert und je nach den einzelnen Arten verschieden ist, ferner, daß es ein reiner Glücksfall ist, daß bei der Verwendung von *Str. Rexii* Basel einmal verhältnismäßig geringe Labilität im Spiele ist, so daß sich die reinen Gen-Verhältnisse dort in den Zahlen deutlich kennzeichnen. Dementsprechend ist es also angezeigt, dieser Labilität noch genauer nachzugehen.

e) **Die labile Manifestation des Phänomens der Blütenschlitzung.** Zwei Kreuzungs-Serien sind unter diesem Gesichtspunkt bearbeitet worden, diejenigen zwischen *Str. Wendlandii* Freiburg und *Str. Rexii* K 1275, und zum anderen die zwischen *Str. Wendlandii* München und *Str. Michelmerei*. *Str. Rexii* K 1275 wurde deswegen verwendet, weil in seinen Kreuzungen mit *Str. Wendlandii* eine derartige Labilität hinsichtlich der Blütenschlitzung zu finden ist, daß an ein und demselben Individuum ganz verschiedenartige Blüten auftreten. Die andere Kreuzung mit *Str. Michelmerei* wurde darum besonders berücksichtigt, weil hier ungewöhnlich reichblütige Infloreszenzen in der Kreuzung mit *Str. Wendlandii* zustande kommen, so daß sich eine Auszählung von 100 Blüten an einer einzelnen Pflanze ohne Schwierigkeiten machen läßt. Auf diese Weise sind bei dieser letzten Kreuzungs-Serie wirklich präzise Aussagen über die Penetranz des Merkmals zu machen.



*α) Kreuzungen zwischen Str. Wendlandii* Freiburg und *Str. Rexii* K 1275. Es zeigt Abb. 11 eine  $R_1$ , bei der das Phänomen schon deutlich erkennbar ist. Es finden sich hier sympetale, zum Teil geschlitzte und total geschlitzte Blüten an demselben Individuum. Wir haben nun von solchen Formen weitere Rückkreuzungen gemacht, also mehrere  $R_2$ -Nachkommenschaften aufgezogen, wiederum mit *Str. Rexii* K 1275 rückgekreuzt. Tabelle 4 bringt das Ergebnis. Dabei ist zweierlei bemerkenswert. Einmal, daß die Pflanzen, die nur einen Blütentyp zeigen, die weitaus selteneren sind gegenüber denjenigen, die verschiedene Blütentypen besitzen (Abb. 12 zeigt eine solche Pflanze), und endlich, daß in der Variationsbreite über den ganzen Bereich kaum ein Unterschied ist, ob eine  $R_1$ -Pflanze mit sympetalen Blüten — die selbstverständlich eine Heterozygote gewesen sein muß — eine solche mit geschlitzten und sympetalen Blüten, oder endlich eine mit total geschlitzten Blüten zur Rückkreuzung verwendet worden ist. Die Manifestation ist hier eine derartig labile, daß eine genaue faktorielle Analyse unmöglich ist. Dennoch kann man es als durchaus wahrscheinlich ansehen, daß das bifaktorielle Verhältnis die Grundlage bildet.



Abb. 11. *Streptocarpus* [(*Wendlandii* × *Rexii* K 1275) × *Rexii* K 1275]. Die Pflanze zeigt ebenso wie die folgende alle Blütentypen

*β) Kreuzungen zwischen Str. Wendlandii* und *Str. Michelmoriei*. Eine ähnliche labile Manifestation findet sich bei der Kreuzung *Str. [(Wendlandii* × *Michelmoriei)* × *Michelmoriei*]. Wir können — wie oben schon erwähnt — an den reichblütigen Infloreszenzen dieser Bastarde 100 Blüten pro Individuum auszählen, was bei den Kreuzungen mit *Str. Rexii* sowie den sonstigen wenigblütigen rosulaten Formen ausgeschlossen ist. Bei letzteren bleiben die Zahlen der registrierten Blüten etwa zwischen 10 und 12. Auch von den *Wendlandii*-*Michelmoriei*-Kreuzungen sind  $R_2$  Nachkommenschaften aufgezogen worden von solchen Pflanzen, die sympetale, sympetale, zum Teil geschlitzte und total geschlitzte Blüten, und endlich von solchen, die allein total geschlitzte Blüten besaßen. Bei der Auszählung sind sodann die Prozentsätze an geschlitzten Blüten vermerkt worden, welche diejenigen Pflanzen unter den Nachkommenschaften aufweisen, die alle Blütenzustände von sympetal bis zu total geschlitzt besitzen. Die Befunde sind in Tabelle 5 zusammengefaßt.

Die Resultate dieser Kreuzungen sind in zweierlei Hinsicht auszuwerten. Einmal haben wir die Blütenzustände als solche miteinander zu vergleichen, also sympetale; sympetale, zum Teil geschlitzte und total geschlitzte, und endlich total geschlitzte, und dabei sieht man, wenn man von Kreuzung 89, d. h. der

$R_1$  absieht, daß entsprechend dem Blütenzustand der Eltern die Zahl der Pflanzen mit sympetalen abnimmt und die der Pflanzen mit geschlitzten bzw. total geschlitzten zunimmt. Immerhin ist bemerkenswert, daß auch als Nachkommen einer Pflanze mit total geschlitzten Blüten doch noch 7 auf 36, also 20% Pflanzen mit sympetalen Blüten gefunden werden, dafür freilich auch 8% Pflanzen mit total geschlitzten Blüten. Das entspricht durchaus den Erwartungen, die man



Abb. 12. *Streptocarpus* [((*Wendlandii*  $\times$  *Rexii* K 1275)  $\times$  *Rexii* K 1275)  $\times$  *Rexii* K 1275]. Ebenfalls Pflanze mit allen Blütentypen aus der  $R_2$

stellen kann, wenn die angenommene genische Grundlage durch eine sehr erhebliche labile Manifestation überlagert wird.

Zum anderen haben wir die Labilität des Merkmals selbst zu betrachten, ausgedrückt als seine Penetranz. Dabei können wir durchaus die Kreuzung 89 mit einbeziehen. Wir untersuchen in allen Kreuzungskombinationen allein die Pflanzen, die sympetale zum Teil geschlitzte und total geschlitzte Blüten aufweisen. Dabei finden wir tatsächlich eine durchaus gleichmäßige Verteilung über den gesamten Bereich von unter 10% bis über 50%. Eine kleine Abweichung ist vielleicht darin zu bemerken, daß der Anteil der geschlitzten Blüten über 50% als Nachkommenschaft der total geschlitzten etwas angestiegen ist. Vermutlich hängt das damit zusammen, daß hier — eben infolge der labilen Manifestation — zu viele Pflanzen in die mittlere der 3 Blütenzustandskategorien hineinge-

raten sind. Im großen und ganzen ist aber aus dieser Zusammenstellung ersichtlich, daß die Penetranz des Merkmals, wenn sie nicht auf irgendeine Weise genisch gestört wird, durchaus eine gleichmäßige Größe darstellt.

### 3. Der Einfluß der Temperatur auf die Ausbildung der Blütenschlitzung

Wir hatten schon eingangs ausgeführt, daß wir dieselbe Kreuzung zur Auszählung der Blütenschlitzung benutzten, die wir auch für die Demonstration der Geschlechtsreaktion verwendet hatten, wovon in der letzten Arbeit (OEHLKERS 1956: *Streptocarpus* V) die Rede war. Dabei hatte sich ergeben, daß die Temperatur einen faßbaren modifikativen Einfluß auf die Geschlechtsausprägung ausübte und zum andern, daß auch eine genotypische Einwirkung zu konstatieren



Tabelle 4

Kreuzung	Pflanzen mit sympetalen Blüten						Gesamtzahl der Pflanzen
	Pflanzen mit sympetalen Blüten	Pflanzen mit sympetalen und zum Teil geschlitzten Blüten	Pflanzen mit sympetalen, zum Teil geschlitzten und total geschlitzten Blüten	Pflanzen mit zum Teil geschlitzten Blüten	Pflanzen mit zum Teil geschlitzten Blüten und total geschlitzten Blüten	Pflanzen mit total geschlitzten Blüten	
Nr. 94, 1955; 152a, Str. [(( <i>Wendlandii</i> × <i>Rexii</i> K 1275) × <i>Rexii</i> K 1275) Pflanze mit sym- petalen Blüten × <i>Rexii</i> K 1275]	1 3%	2 6%	10 31%	1 3%	14 34%	4 13%	32
Nr. 95, 1955; 152b, Str. [(( <i>Wendlandii</i> × <i>Rexii</i> K 1275) × <i>Rexii</i> K 1275) Pflanze mit geschlitzten und sympetalen Blüten × <i>Rexii</i> K 1275]	—	2 6%	12 40%	1 3%	11 37%	4 13%	30
Nr. 96, 1955; 152c, Str. [(( <i>Wendlandii</i> × <i>Rexii</i> K 1275) × <i>Rexii</i> K 1275) Pflanze mit geschlitzten Blüten × <i>Rexii</i> K 1275]	—	4 16%	10 40%	1 4%	6 24%	4 16%	25

Tabelle 5

Kreuzung	Blütenzustand			Penetranz des Merkmals							Gesamtzahl der Pflanzen
	sym- petal	sympetal, zum Teil geschlitzt und total geschlitzt	total ge- schlitzt	bei Pflanzen mit sympetalen, zum Teil geschlitzten und total geschlitzten Blüten ist der Anteil der geschlitzten Blüten							
				unter 10 %	bis 20 %	bis 30 %	bis 40 %	bis 50 %	über 50 %		
Nr. 89, 1953; 51 Str. [((Wendlandii × Michelmoresi) × Michelmoresi)] (vgl. Tabelle 3)	15 33 %	28 62 %	2 5 %	17	5	2	2	—	2	45	
Nr. 97, 1954; 201 Str. [(Wendlan- dii × Michelmoresi) × Michelmoresi sympetal) × Michelmoresi]	48 67 %	24 33 %	—	15	4	4	—	1	—	72	
Nr. 98, 1954; 201 Str. [((Wendlan- dii × Michelmoresi) × Michelmoresi zum Teil geschlitzt) × Michelmoresi]	14 52 %	13 48 %	—	5	6	—	1	1	—	27	
Nr. 99, 1954; 201 Str. [((Wendlan- dii × Michelmoresi) × Michelmoresi total geschlitzt) × Michelmoresi]	7 20 %	26 72 %	3 8 %	8	2	3	—	3	10	36	

ist dadurch, daß die Temperaturbehandlung der Mutterpflanze einen charakteristischen Einfluß auf die Nachkommenschaft besaß. Wir müssen nun die gleiche Berechnung für die Blütenschlitzung durchführen, und greifen dafür wieder auf Tabelle 1 zurück. Stellt man die Reihen A den Reihen C gegenüber, so zeigt sich, daß hier tatsächlich eine exakte Homogenität besteht,  $\chi^2=0,70$ ,  $P=>0,3$ . Faßt man dagegen die Reihen A und B zusammen und stellt sie C gegenüber, so ist der Wert auch noch durchaus der einer Homogenität, allerdings ein wenig an der Grenze,  $P=0,052$ . So können wir also konstatieren, daß hier kein modifikativer Einfluß der Temperatur auf die Ausprägung der Blütenschlitzung besteht.

Ich erinnere daran, daß der  $P$ -Wert für die Reihen A, B gegenüber C für die Geschlechtsausprägung kleiner ist als  $10^{-5}$  (OEHLKERS 1956, S. 729).

Nun wäre noch zu erörtern, ob die Behandlungsweisen der Ausgangspflanzen, von denen die Rückkreuzung gewonnen ist, irgendeinen Einfluß auf die Ausprägung der Blütenschlitzung besitzen. Das heißt, ob sich eine gesicherte Differenz zwischen Nr. 73; 1954, 14 und Nr. 74; 1954, 41 findet. Das ist auch nicht der Fall, der  $P$ -Wert dafür beträgt 0,3. Der  $P$ -Wert für die Inhomogenität derselben Kreuzung bezüglich der Geschlechtsbestimmung war 0,0029 (vgl. OEHLKERS 1956 b, S. 729, Tabelle 4). Also es ist klar und deutlich, daß die Blütenschlitzung und die Geschlechtsbestimmung, die beide in ein und derselben Kreuzung von dem gleichen Plasmon (*Str. Wendlandii*) gesteuert werden, eine grundsätzlich andere Reaktion auf die Temperatur zeigen: bei der Geschlechtsbestimmung gesicherte Differenzen sowohl durch die Behandlung der Ausgangspflanzen als auch durch die Behandlung der Rückkreuzungen selbst, bei der Blütenschlitzung dagegen keines von beiden. Das ist um so erstaunlicher, als es sich in beiden Fällen um das gleiche Plasmon — wir wiederholen das; es hat sehr einschneidende prinzipielle Bedeutung — handelt, nämlich dasjenige von *Str. Wendlandii*. Damit wären die experimentellen Befunde zusammengefaßt.

## D. Diskussion der Ergebnisse

### 1. Die Genetik der Blütenschlitzung

Nach den hier niedergelegten Befunden und nach den früher von mir publizierten Ergebnissen (OEHLKERS 1938), die ebenfalls über ein klares Zahlenmaterial verfügten, könnte es so aussehen, als ob zweierlei Möglichkeiten für die genische Grundlage der Blütenschlitzung bestünden, als ob sowohl eine monofaktorielle als auch ein bifaktorielle Erbllichkeit denkbar wäre. Es müßte dann etwa in der Linie *Str. Rexii* Basel eine weitere Mutation hinzugekommen sein, die nun im additiven Verhältnis zu der ersteren steht und mit dieser die hier einwandfrei erwiesene Aufspaltung ergibt. Selbstverständlich müßte diese neu aufgetretene Mutation dasselbe Verhältnis gegenüber dem plasmonischen Korrelat zeigen; ungreifbare bzw. absolut verhinderte Manifestation im *Rexii*-Plasmon, deutlich erkennbare dagegen im *Wendlandii*-Plasmon. Wir halten diese Auffassung trotz der guten Zahlen von 1938 doch für unwahrscheinlich<sup>1</sup>, weil nämlich die Art der Blütenschlitzung von 1938 und die gegenwärtig bearbeitete genau die gleiche ist. Auch damals konstatierten wir bereits total geschlitzte und zum Teil geschlitzte Blüten. Allerdings ist damals nicht genau genug darauf geachtet worden, ob sich die Pflanzen nach ihrem Blütenzustand auch unterscheiden lassen, und vor allen Dingen fehlten damals die Resultate weiterer Rückkreuzungen solcher Pflanzen.

Angesichts der Tatsache, daß sich alle beliebigen Zahlenverhältnisse in den hier aufgeführten sehr verschiedenartigen Kreuzungen aller derjenigen Arten, die sich alle, sowohl was die Geschlechtsbestimmung als auch was die Blütenschlitzung anlangt, bei der Kreuzung mit *Str. Wendlandii* ♀ genau so wie *Str. Rexii* verhalten, will es uns nun doch als sehr viel wahrscheinlicher erscheinen,

<sup>1</sup> Daß überhaupt die Entstehung der beiden Erbfaktoren in ähnlicher Weise erfolgt sein kann, soll nicht bestritten werden, nur glauben wir Grund zu der Annahme zu haben, daß diese — weit zurückliegend — im Zuge der Artbildung abgelaufen ist.



daß die Resultate von 1938 nur ein einzelner Ausschnitt aus einer sehr großen Reihe sind, die durch labile Manifestation der Merkmalsausprägung zustande kommt. Die Übersicht über eine größere Anzahl von Arten<sup>1</sup> zeigt, daß die gefundenen Zahlenverhältnisse in den Kreuzungen mit *Str. Wendlandii* ♀ in den meisten Fällen — am klarsten bei *Str. Rexii* Basel, aber auch in anderen — einem dihybriden Zahlenverhältnis nahekommen, bzw. ein solches sogar wie in der Kreuzung mit *Str. montigena* überschreitet. So ist es wohl einigermaßen sicher, daß die Abweichungen davon durch Manifestationsschwankungen zustande kommen. Diese können, wie wir ja gezeigt haben, so groß werden, daß die Penetranz des Merkmals in eine labile Dominanz übergeht, eben bei der Kreuzung zwischen *Str. Wendlandii* und *Str. montigena*. Hier tritt die Blütenschlitzung schon in der  $F_1$  auf. Wir können also wohl so zusammenfassen, daß die genische Grundlage für *Str. Rexii* Basel unter allen Umständen exakt beweisbar eine dihybride ist, für alle übrigen Formen höchst wahrscheinlich, weil durch Manifestationsschwankungen verwischt.

Diese Manifestationsschwankungen, die auch bei *Rexii* Basel Kreuzungen zu konstatieren waren, erwiesen sich hier, wie gesagt, als relativ geringfügig, so daß die klaren Zahlenverhältnisse kaum überdeckt werden. Das Gegenbeispiel außerordentlichster Differenzen in der Ausprägung des Merkmals zeigt *Str. Rexii* K 1275, bei dem sich verschiedenartige Blütentypen an ein und derselben Pflanze vorfanden<sup>2</sup>. In einem Fall, nämlich an den reichblütigen Infloreszenzen der Kreuzung zwischen *Str. Wendlandii* und *Michelmoresi*, ließ es sich aufweisen, daß es sich nur um labile Manifestation handelt, kaum um mutative Vorgänge, dadurch nämlich, daß die Art und Weise der Penetranz des Merkmals sich in verschiedenen Kreuzungen als einigermaßen gleichmäßig kennzeichnet. Für die allgemeinen Ergebnisse ist die Konstatierung bedeutungsvoll, daß bei *Str. Rexii* Basel sicher, bei den übrigen mit großer Wahrscheinlichkeit ein dihybrides genisches Verhältnis die Blütenschlitzung bestimmt mit labiler Manifestation, die offenbar in ihrer gradweisen Verschiedenheit von den Genen selbst in den einzelnen Arten abhängig ist.

## 2. Der Einfluß der Temperatur auf die Blütenschlitzung

Es ist besonders bemerkenswert und wir hatten bereits in der vorhergehenden Arbeit (OEHLKERS 1956b, *Streptocarpus* V) darauf hingewiesen, daß keinerlei Einfluß der Temperatur, bei der die Pflanzen aufgewachsen sind, auf die Blütenschlitzung zu konstatieren ist, also weder ein direkter modifikativer Einfluß

<sup>1</sup> Auffällig ist, daß die beiden Phänomene: Geschlechtsbestimmung wie bei *Str. Rexii*, und Blütenschlitzung stets parallel gehen, obwohl die Gene für die Geschlechtsausprägung und für die Blütenschlitzung bestimmt nicht gekoppelt sind. Übrigens wird von der Geschlechtsbestimmung der hier zusammengefaßten Kreuzungsserien später in einer anderen Arbeit noch die Rede sein.

<sup>2</sup> Ein Befund ist noch nicht erhoben, der zur Abrundung des Bildes fehlt und später in anderem Zusammenhang dargestellt werden soll. Das ist die Frage, wieweit bei *Str. Rexii* K 1275, abgesehen von Manifestationsschwankungen, die noch unter den Begriff der Penetranz fallen, labile mutative Vorgänge im Spiele sind, wieweit sich also Nachkommenschaften verschiedener Blüten ein und derselben Pflanze als voneinander statistisch gesichert verschieden erweisen. Wir haben erst in diesem Jahr die notwendigen Kreuzungen gemacht, können also deren Erfolge frühestens im nächsten beurteilen.

noch ein indirekter durch die Kulturbedingungen, unter denen die Eltern gestanden haben. Das ist deshalb so bedeutungsvoll, weil es, wie wir bereits in der vorhergehenden Arbeit (OEHLKERS 1956 b, *Streptocarpus V*) erörterten, ausgeschlossen ist, daß die dort so klare indirekte Temperatureinwirkung irgendein mutativer Einfluß sein kann, der sich auf die Gene erstreckt. Wir müssen es also hier mit einer Einwirkung auf das Plasmon zu tun haben. Es handelt sich in beiden Fällen — bei der Geschlechtsbestimmung wie bei der Blütenschlitzung — um die Gene aus *Str. Rexii*, die mit dem generativen Kern des Pollenschlauches übertragen werden; es handelt sich ferner um „das“ Plasmon von *Str. Wendlandii*! Können wir aber unter den eben geschilderten Verhältnissen noch annehmen, daß „das Plasmon“ von *Str. Wendlandii* und darüber hinaus das Plasmon überhaupt ein einheitliches Gebilde ist? Das scheint doch wohl im höchsten Grade unwahrscheinlich zu sein. Wir haben uns also im folgenden Abschnitt mit der Konstitution des Plasmons zu befassen.

### 3. Die Konstitution des Plasmons

Wir haben schon öfters darauf hingewiesen, daß in den meisten Fällen, wo eine Plasmoneinwirkung erkennbar ist, es sich um eine solche der Zusammenarbeit von Genen aus einem fremden Kern mit irgendeinem anderen Plasmon handelt, wobei das eigene Plasmon die Manifestation dieser Gene nicht erlaubt oder in andere Bahnen leitet. In diesem Fall, bei der Kreuzung zwischen *Str. Wendlandii* und *Str. Rexii* Basel handelt es sich um zwei voneinander unabhängige Gruppen von Genen, denen für die Geschlechtsbestimmung und denen für die Blütenschlitzung. Nun können wir heute noch nicht mit voller Sicherheit sagen, ob die Gene für die Geschlechtsbestimmung einheitlich sind. Darüber wird später noch einmal zu diskutieren sein. Jedenfalls müssen wir sie zunächst einmal als karyotisch bedingt ansehen und in großen Zügen lassen sich bei Rückkreuzungen 1:1-Verhältnisse erkennen, so daß also jedenfalls als genische Grundlage ein einfach monohybrides Spaltungsverhältnis nicht zu bezweifeln ist. Die andere Gruppe, nämlich die Gene für die Blütenschlitzung, haben sich bei der Kreuzung mit *Str. Rexii* Basel mit Sicherheit als dihybrid erwiesen und sind bestimmt nicht mit den Genen für die Geschlechtsbestimmung gekoppelt. Sie dürften auch wohl untereinander nicht gekoppelt sein, so daß wir annehmen können, daß sich alle 3 Genpaare auf verschiedenen Chromosomen befinden. Soweit die rein genischen Verhältnisse, wobei stets zu bedenken ist, daß eine Manifestation der entsprechenden Merkmale ausschließlich im Plasmon von *Str. Wendlandii* oder *Str. Comptonii* erfolgt, keineswegs aber in irgendeiner der anderen Arten, die wir in unseren Kreuzungen verwendet hatten.

Nun die experimentellen Ergebnisse. Wir stellen fest, daß die Temperatur, unter der die Pflanzen aufgewachsen sind, einen höchst differenten Einfluß auf die Manifestation der beiden Gen-Gruppen hat. Keinerlei Einwirkung auf die Blütenschlitzung; eine ungemein eingreifende dagegen auf die Geschlechtsbestimmung. Die interessanteste ist die Einwirkung, die sich an den Nachkommen kennzeichnet und von der Aufzuchtstemperatur der Eltern herrührt. Bezüglich der Blütenschlitzung besteht exakte Homogenität, hinsichtlich der Geschlechtsbestimmung dagegen eine klare, gesicherte Differenz zwischen den Kindern der Wärme- und Kältepflanzen. Es fragt sich nun, welcher Art ist diese Einwirkung? Eine ge-



nisch-mutative kann es nicht sein, das erörterten wir bereits 1956b. So ist nur eine plasmonische möglich. Das nun wiederum setzt voraus, daß „das Plasmon“ ebensowenig wie „das Genom“ eines Organismus ein einheitliches Substrat ist, sondern sich aus verschiedenen und verschieden reagierenden Partikeln zusammensetzt. Diese Reaktion möge etwa in dem Sinne verlaufen, daß die Plasmon-Partikel, die etwas mit der Genetik der Blütenschlitzung zu tun haben, bei den experimentell verwendeten Temperaturen eine stets gleichbleibende Reproduktionsgeschwindigkeit besitzen und damit zugleich auch immer denselben Wirkungsgrad. Anders dürfte es mit den geschlechtsbestimmenden Partikeln sein; diese scheinen sich bei den verwendeten tiefen Temperaturen anzureichern und damit erhöht sich ihre Wirksamkeit in ihren Nachkommen.

Etwas weiteres scheint uns ebenfalls noch bemerkenswert zu sein, was in der vorhergehenden Arbeit noch nicht erörtert werden konnte. Wir müssen annehmen, daß die Gene auf den Chromosomen wahllos verteilt sind. Jede Chromosomenkarte macht durchaus den Eindruck, als wären sie völlig ungeordnet. So ist es also auch höchstwahrscheinlich, daß die beiden an der Blütenschlitzung beteiligten Gene auf verschiedenen Chromosomen irgendwo neben und zwischen anderen liegen. Man kann nun dem hier errichteten Hypothesengebäude noch ein Stockwerk aufsetzen und annehmen, daß diese auf den verschiedenen Chromosomen liegenden Gene in ihrer Genwirkung von ihrem zugehörigen Plasmonpartikel sozusagen aufgefangen werden, und daß dadurch erst die Ordnung zustande kommt. So dürften die Plasmonpartikel, die die Blütenschlitzung zur Folge haben, dieselben sein, denn sie haben ja die gleiche Reaktion auf die Temperatur. Sie empfangen aber alle die Genwirkungen von *schiz*<sub>1</sub> und *schiz*<sub>2</sub> von zwei verschiedenen Chromosomen her. Die Plasmonpartikel, die sich mit der Geschlechtsbestimmung befassen, sind dagegen andere; sie erhalten zunächst die Wirkungen von A und G und wahrscheinlich, abgesehen davon, noch von den verschiedensten Chromosomen her ihnen möglicherweise zugehörige und zugeordnete Genwirkungen.

Es lag uns daran, zunächst unsere neueren experimentellen Befunde mitzuteilen. Eine kritische Auseinandersetzung mit den früheren Ergebnissen wird in einer mehr theoretisch orientierten Abhandlung in Kürze folgen.

### Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Die Genetik der Blütenschlitzung wird auf der Basis eines bifaktoriell additiven Verhältnisses interpretiert, im Gegensatz zu unserem früheren Befund eines monofaktoriellen. Additiv insofern, als auch ein epistatisches Verhalten der jeweils doppeltdominanten über die doppeltrezessiven besteht, so daß also ein 11:4:1-Verhältnis in der F<sub>2</sub> zustande kommt und ein klares 1:2:1-Verhältnis bei der Rückkreuzung mit dem väterlichen Elter.

2. Alle anderen Zahlenverhältnisse, deren es bei den Kreuzungen der verschiedensten Arten mit *Str. Wendlandii* als Mutter sehr zahlreiche gibt, unter anderem auch wie in unserer ersten Arbeit (OEHLKERS 1938) ein anscheinend monofaktorielles, werden durch labile Manifestation des Merkmals erklärt.

3. Die Auswertung derselben Kreuzungen für die Geschlechtsbestimmung, die in der Arbeit OEHLKERS 1956b erfolgt ist, und für die Blütenschlitzung zeigen deutlich, daß die Temperatur keinerlei Einfluß auf die Ausprägung des letzteren Merkmals hat, und zwar weder einen direkt modifikativen, noch einen indirekt

genotypischen durch die Aufzuchtstemperaturen der Eltern. Das führt zu der Auffassung, daß das *Wendlandii*-Plasmon aus verschiedenen plasmonischen Einheiten zusammen gesetzt sein muß, die sich gegenüber der Temperatur verschieden verhalten.

4. Diese plasmonischen Einheiten müssen die Wirkungen, die von den Genen ausgehen, die Genstoffe also, je nach ihrer phänotypischen Auswirkung auffangen und zur Wirkung bringen.

Verschiedenen Helfern habe ich zu danken. Vor allen meiner langjährigen Mitarbeiterin UTE EBELL, sodann Fräulein IRMGARD NEUGEBAUER und Fräulein KARIN HÖLZER. Letztere verfertigte die guten Photographien. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft half nachdrücklich mit Mitteln und Personal.

### Literatur

LAWRENCE, W. J. C.: The Genus *Streptocarpus*. J. Roy. Horticult. Soc. **65**, 17—22 (1940). — OEHLKERS, F.: Bastardierungsversuche in der Gattung *Streptocarpus* LINDL, I. Plasmatische Vererbung und die Geschlechtsbestimmung von Zwitterpflanzen. Z. Bot. **32**, 305—393 (1938). — Veränderungen in der Blühbereitschaft vernalisierter Cotyledonen von *Streptocarpus*, kenntlich gemacht durch Blattstecklinge. Z. Naturforsch. **11b**, 471—480 (1956a). — Bastardierungsversuche in der Gattung *Streptocarpus* LINDL. V. Phänotypische und genotypische Geschlechtsbestimmung bei dem Bastard *Str. (Wendlandii* × *Rexii*). Z. Vererbgslehre **87**, 722—734 (1956b).

Prof. Dr. FRIEDRICH OEHLKERS, Freiburg i. Br., Schänzlestraße 9



Aus dem Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung (Erwin-Baur-Institut) Köln-Vogelsang  
(Direktor: Prof. Dr. W. RUDORF)

## UNTERSUCHUNGEN ÜBER DEN ZUSAMMENHANG ZWISCHEN CHROMOSOMENZAHL UND KREUZBARKEIT BEI *SOLANUM*-ARTEN\*

Von

KARL-HARTMUT FRHR. V. WANGENHEIM

Mit 15 Textabbildungen

(Eingegangen am 13. August 1956)

Die Einkreuzung von Wildformen in unsere Kulturkartoffeln hat eine immer größere Bedeutung erlangt, da es oft schon nach relativ wenigen Rückkreuzungsgenerationen gelang, leistungsfähige und sortenähnliche Klone mit wertvollen Eigenschaften der Wildeltern hervorzubringen (REDDICK 1943, RIEMAN, COOPER und HOGAS 1954, RUDORF 1954, RUDORF und ROSS 1954). Es war aus diesem Grunde wünschenswert, die Ursache der zwischen *Solanum tuberosum* und einigen Wildarten bestehenden Kreuzungsschwierigkeiten näher zu untersuchen. Hierbei interessierte besonders der merkwürdige Zusammenhang zwischen Chromosomenzahl und Kreuzbarkeit (RUDORF und ROSS 1952).

TISCHLER (1954) schlug vor, zur Vereinheitlichung der Bezeichnungen für Basiszahlen nur die hypothetischen Basiszahlen, aus denen sich die heutigen entwickelt haben mögen, mit  $x$  zu bezeichnen, die heute offensichtlich bestehenden und vermutlich einmal sekundär aus anderen Zahlen hervorgegangenen Basiszahlen dagegen mit  $b$ . Im folgenden soll deshalb der Übersichtlichkeit wegen zur Angabe der Ploidiestufe die Basiszahl 12 mit  $b$  bezeichnet und bei der Angabe von Kreuzungen die Mutter stets vorangestellt werden.

### A. Material und Methode

Als *S. tuberosum*-Elter wurde die Sorte Fichtelgold des Nordostbayerischen Saatbauverbandes benutzt.

Die Wildarten entstammen dem Erwin-Baur-Sortiment (EBS) des Max-Planck-Institutes in Voldagsen (jetzt Köln-Vogelsang). Im einzelnen wurden benutzt: *S. stenotomum* JUZ. et BUK. EBS 370, *S. goniocalyx* JUZ. et BUK. EBS 362, *S. phureja* JUZ. et BUK. = *S. rybinii* EBS 462, *S. vernei* BITT. et WITTM. EBS 181, *S. simplicifolium* BITT. EBS 184 und 187, *S. acaule* BITT. EBS 10.

*S. vernei* 4b EBS 195 wurde von ROSS, *S. chacoense* 4b EBS 20 von TORKA und *S. acaule* 8b EBS 453 von SWAMINATHAN polyploidisiert.

Alle auf tetraploidem und ein Teil der auf oktaploidem *S. acaule* gemachten Kreuzungen wurden im Gewächshaus durchgeführt. Der größte Teil der Kreuzungen auf diploidem *S. vernei* mit *S. tuberosum* wurde im Freiland mit Tüten isoliert. Bei allen übrigen Kreuzungen wurde auf die Isolierung mittels Tüten verzichtet, da sie erfahrungsgemäß schlecht auf den Befruchtungsvorgang einwirkt. Statt dessen wurde mindestens täglich, solange die Blüten geöffnet waren, mit frischem Pollen bestäubt. Es wurde erwartet, daß auf diese Weise der größte Teil der Samenanlagen befruchtet und unerwünschte Fremdbestäubung sich nicht störend bemerkbar machen würde. Unerwünschte Fremdbestäubung ist bei den embryologischen Untersuchungen gar nicht aufgefallen, während in den reif gewordenen Beeren 3 Samen enthalten waren, die auf diese Weise entstanden sein dürften (s. Tabelle 1). Die bestäubten Blüten waren sämtlich kastriert worden.

Die Fruchtknoten wurden in Abständen von 1 und 2 Tagen in der Zeit vom 6.—15. Tag nach der ersten Bestäubung in MÜNTZINGS Abwandlung der Fixierungslösung von NAVASHIN-KARPECHENKO fixiert. Um das Eindringen der Lösung zu unterstützen, waren vorher die

\* Herrn Professor Dr. W. RUDORF zu seinem 65. Geburtstag gewidmet

Fruchtwände entfernt worden, außerdem wurden die Fruchtknoten für 1—2 min in Carnoy 1:3 (Eisessig:Alkohol) vorbehandelt. Nach der Überführung in Paraffin wurden sie auf 17  $\mu$  geschnitten, mit Kristallviolett und Lichtgrün gefärbt und in Kanadabalsam eingebettet. Chromosomenzählungen wurden an Orcein-Quetschpräparaten durchgeführt, die eine Oxychinolin-Vorbehandlung erhalten hatten (TJIO und LEVAN 1950, SWAMINATHAN 1950).

## B. Kreuzbestäubungen und deren Ergebnisse

Die Kreuzbestäubungen (Tabelle 1) waren in erster Linie durchgeführt worden, um Material für die zur Beobachtung der Samenanlagen notwendigen Fixierungen zu haben. Es sind deshalb häufig da, wo nur wenige Bestäubungen durchgeführt werden konnten und nur wenig Ansatz erhalten wurde, alle ansetzenden Fruchtknoten fixiert worden. Die neben den fixierten Fruchtknoten erhaltenen reifen Beeren bzw. die Zahl der in ihnen enthaltenen Samen und die Ploidiestufe der entstandenen Sämlinge sind jedoch sehr charakteristisch für die einzelnen Kreuzungen.

Der Ansatz war oft sehr schlecht. Dies muß aber auf das meist sehr kalte Wetter des Sommers 1954 zurückgeführt werden, da beobachtet wurde, daß die Blüten immer dann besonders leicht abfielen, wenn es während der Bestäubung kalt war. Niedrige Temperaturen hemmen vor allen Dingen das Pollenschlauchwachstum auch bei sonst leicht durchführbaren Kreuzungen. Dies wurde Pollenschlauchwachstumsversuchen und der Untersuchung von 4 Fruchtknoten aus der Kreuzung *S. phureja*  $\times$  *S. tuberosum* entnommen, die nach vier kalten Tagen trotz mehrfacher Bestäubung abgefallen waren und außer einer einzigen Samenanlage mit einem geteilten sekundären Embryosackkern keine Pollenschlauchreste oder Befruchtung erkennen ließen (v. WANGENHEIM 1956).

Es wurde beobachtet, daß sich unter optimalen Bedingungen feuchtwarmer Witterung, wie vor allem im Sommer 1954 im Gewächshaus, bei allen aufgeführten Kombinationen (Tabelle 1) leicht Ansatz und mehr oder weniger große Beeren erzielen ließen. Alle Beeren aus Kreuzungen zwischen natürlichen und künstlich polyploidisierten Wildarten — oder zwischen natürlichen Wildarten und *S. tuberosum* — waren jedoch ebenso wie diejenigen aus den Kreuzungen der beiden tetraploiden Wildarten *S. acaule* und *S. stoloniferum* mit *S. tuberosum* (v. WANGENHEIM 1954) meist leer oder enthielten nur sehr kleine Samen mit schlechter Keimfähigkeit (s. Tabelle 1).

In der Kreuzung zwischen dem natürlich tetraploiden *S. acaule* und oktoploidem *S. acaule* hätte man hexaploide Bastarde erwartet. Es sind aber nur zwei von sieben Bastarden hexaploid, dagegen vier oktoploid, und ihre Entstehung ist durch unreduzierte Embryosäcke zu erklären, wie sie bei *Solanum* häufig beobachtet wurden. Die Entstehungsweise eines tetraploiden Sämlings aus dieser Kreuzung ist ungewiß. Ähnlich ist es in der Kreuzung zwischen dem diploiden *S. vernei* und *S. tuberosum*: von den erwarteten triploiden Bastarden tritt nur ein einziger auf, sieben dagegen sind tetraploid, und sie sind deshalb wahrscheinlich wieder durch das Auftreten von unreduzierten Embryosäcken entstanden. Bei den beiden diploiden Sämlingen stellte sich heraus, daß es sich um Selbstungen handelte.

Unreduzierte Gameten scheinen ebenfalls bei der Entstehung der Bastarde aus *S. chacoense* (4b, künstl. polyploid)  $\times$  *S. goniocalyx* 2b, *S. goniocalyx* 2b  $\times$  *S. tuberosum*, *S. simplicifolium* 2b  $\times$  *S. tuberosum* und der reziproken Kreuzung mitgewirkt zu haben.



Tabelle 1. Kreuzungsergebnisse

Kreuzung	Ort	Anzahl der angesetzten Fruchtknoten		Anzahl der Samen	Entstandene Sämlinge und deren Ploidiestufe				
		fixiert	reif gewordene Beeren		2b	3b	4b	6b	8b
<i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid) × <i>S. acaule</i> 8b (polyploidisiert)	Gewächshaus	27	22	23	—	—	1	2	4
<i>S. acaule</i> 8b (polyploidisiert) × <i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)	desgl. Freiland	4 10	— —	— —	—	—	—	—	—
<i>S. vernei</i> 4b (polyploidisiert) × <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)	desgl.	12	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid) × <i>S. chacoense</i> 4b (polyploidisiert)	„	3	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. chacoense</i> 4b (polyploidisiert) × <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)	„	1	6	4	—	—	3	—	—
desgl. × <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)	„	2	6	—	—	—	—	—	—
„ × <i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)	„	1	1	—	—	—	—	—	—
<i>S. stenotomum</i> 2b (normal diploid) × <i>S. tuberosum</i> 4b (normal tetraploid)	„	1	—	—	—	—	—	—	—
<i>S. goniocalyx</i> 2b (normaldiploid) × desgl.	„	22	15	2	—	—	1	—	—
<i>S. phureja</i> 2b (normal diploid) „ „	„	31	11	2	1 <sup>1</sup>	—	—	—	—
<i>S. vernei</i> 2b „ „	„	37	80	14	2 <sup>1</sup>	1	7	—	—
<i>S. simplicifolium</i> 2b „ „	„	6	3	1	—	—	1	—	—
<i>S. tuberosum</i> 4b × <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal tetraploid) (normal diploid)	„	7	1	—	—	—	—	—	—
desgl. × <i>S. phureja</i> 2b (normal diploid)	„	32	2	—	—	—	—	—	—
„ × <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)	„	11	—	—	—	—	—	—	—
„ × <i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)	„	5	10	5	—	—	1	—	—
<i>S. vernei</i> 2b × <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid) (normal diploid)	„	2	3	52	} von diesen Kreuzungen wurden keine Sämlinge untersucht				
desgl. × <i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)	„	2	1	26					
<i>S. simplicifolium</i> 2b × <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid) (normal diploid)	„	2	19	390					
desgl. × <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)	„	2	10	245					
<i>S. acaule</i> 4b × <i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid) (normal tetraploid)	Gewächshaus	4	12	1136					
<i>S. acaule</i> 4b × <i>S. phureja</i> 2b (normal tetraploid) (normal diploid)	desgl.	6	19	1987	—	23 <sup>2</sup>	—	—	—

<sup>1</sup> Diese Sämlinge erwiesen sich als Selbstungen.<sup>2</sup> Es wurde nur eine Stichprobe von 30 Samen ausgesät.

Wie sich aus den embryologischen Untersuchungen ergab, war der Befruchtungserfolg in der im Gewächshaus durchgeführten Kreuzung *S. acaule* 4b  $\times$  *S. acaule* 8b sehr gut und die Zahl der befruchteten Samenanlagen wurde auf 90 je Beere geschätzt. Aus 22 Beeren entstanden aber nur 7 Sämlinge (s. Tabelle 1), von denen nur 2 dem erwarteten hexaploiden Typ entsprachen. Dies bedeutet, daß in einer Größenordnung von nur etwa einer je Tausend befruchteter Samenanlagen eine (möglicherweise) normale Entwicklung stattgefunden hatte, alle anderen aber abstarben oder aus ihnen auf andere Weise, wie etwa durch das zufällige Auftreten von unreduzierten Embryosäcken (hier um 2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>), keimfähige Samen entstanden. Noch etwas geringer, aber in einer ähnlichen Größenordnung, liegt das Verhältnis zwischen den erhaltenen Sämlingen und der mutmaßlichen Anzahl befruchteter Samenanlagen bei der im Freiland durchgeführten Kreuzung *S. vernei* 2b  $\times$  *S. tuberosum*. Der Befruchtungserfolg erwies sich als gut und wurde auf 60 befruchtete Samenanlagen je Beere geschätzt. Aus 80 Beeren entstanden nur 10 Sämlinge (s. Tabelle 1), von denen nur ein einziger dem erwarteten triploiden Typ entsprach, d. h. etwa 0,2<sup>0</sup>/<sub>100</sub>, während bei 7 Sämlingen (1,4<sup>0</sup>/<sub>100</sub>) unreduzierte Embryosäcke mitgewirkt zu haben scheinen.

Im auffallenden Gegensatz zu den erwähnten Kreuzungen steht die Kreuzung zwischen dem natürlich tetraploiden *S. acaule* und dem diploiden *S. phureja*. Die Zahl der Samen je Beere ist überraschend hoch und eine Stichprobe von 30 ausgesäten Samen zeigte, daß die Keimfähigkeit normal und die Bastarde wie erwartet triploid waren.

Die im Freiland durchgeführten Kreuzungen zwischen diploiden Wildarten erwiesen sich wie bekannt (PROPACH 1938) als leicht durchführbar. Der Erfolg wurde jedoch durch die zu dem Zeitpunkt dieser Kreuzungen besonders ungünstigen Witterungsbedingungen beeinträchtigt.

### C. Ergebnisse der embryologischen Untersuchungen

In allen denjenigen Kreuzungen, deren Durchführung sich als schwer erwiesen hatte, wurde ebenso wie bei den Kreuzungen zwischen *S. acaule* bzw. *S. stoloniferum* und *S. tuberosum* (v. WANGENHEIM 1954) gefunden, daß die Befruchtung normal abgelaufen war, später jedoch durch das degenerierende und schließlich absterbende Endosperm die Abortion der Samenanlagen ausgelöst wurde. Die Untersuchung des Endosperms während der kurzen Zeit seiner Existenz zeigte überdies, daß die hier erscheinenden Anomalien bei den reziproken Kreuzungen in sehr verschiedener Weise auftraten. Bei den mikroskopischen Untersuchungen ließen sich deshalb alle Kreuzungen auf Grund der histologischen Merkmale des Endosperms in drei klar voneinander trennbare Typengruppen aufteilen: 1. *Normal*, 2. *Diploid*  $\times$  *Polyloid* und 3. *Polyloid*  $\times$  *Diploid*.

#### I. Die normale Entwicklung des Endosperms

Die normale Entwicklung des Endosperms wurde an Selbstungen von *S. acaule* (Abb. 1), bei Kreuzungen zwischen *S. acaule* 4b und *S. phureja* 2b (Abb. 2 und 3) und zwischen mehreren diploiden Wildarten beobachtet (s. Tabelle 2). Es ist bemerkenswert, daß das Endosperm der Kreuzung *S. acaule* 4b  $\times$  *S. phureja* 2b normal war und Störungen nur sehr vereinzelt auftraten.



Bei der normalen Entwicklung des Endosperms, die etwa 48 Std nach der Bestäubung mit der ersten Teilung des sekundären Embryosackkerns einsetzt, findet eine rege Zellteilungstätigkeit statt. Die ersten Zellen sind groß (Abb. 1), später erscheinen sie kleiner (Abb. 2), sind aber stets im Gegensatz zu den Zellen des Embryos und der angrenzenden Zellgewebe des Endotheliums (die den Embryosack umgebende einzellige Schicht) und des Integumentes stärker vakuolisiert. In fortgeschrittenen Stadien sind die Zellen ziemlich regelmäßig angeordnet (Abb. 3).

In den Kreuzungen *S. simplicifolium* 2b  $\times$  *S. goniocalyx* 2b wurde in je einer Beere als Anomalie neben vielen normal entwickelten Samenanlagen zwei und in der Kreuzung *S. vernei* 2b  $\times$  *S. goniocalyx* 2b eine Samenanlage gefunden, in denen die Zellwandbildung unterblieben und der Embryosack von einer größeren Zahl freier Kerne im Zytoplasma ausgefüllt war. Ähnliche Erscheinungen waren in allen Samenanlagen für die Kreuzungen vom Typ Diploid  $\times$  Polyploid typisch (siehe unten).

## II. Kreuzungstyp Diploid $\times$ Polyploid

Die Entwicklung des Endosperms in Samenanlagen des Kreuzungstyps Diploid  $\times$  Polyploid wurde bei den Kreuzungen *S. acaule* 4b  $\times$  *S. acaule* 8b, *S. goniocalyx* 2b  $\times$  *S. tuberosum*, *S. phureja* 2b  $\times$  *S. tuberosum* und *S. vernei* 2b  $\times$  *S. tuberosum* an Material beobachtet, das vom 6.—10. Tag täglich und am 12. Tag nach der ersten Bestäubung fixiert worden war. Von den anderen Kreuzungen dieses Typs (s. Tabelle 1 und 2) wurden einzelne Stichproben aus der Zeit vom 8.—14. Tag untersucht. Die Kreuzungen *S. acaule* 4b  $\times$  *S. tuberosum* und *S. stoloniferum* 4b  $\times$  *S. tuberosum* gehören ebenfalls in diese Gruppe (siehe v. WANGENHEIM 1954, Abb. 15 und 16).

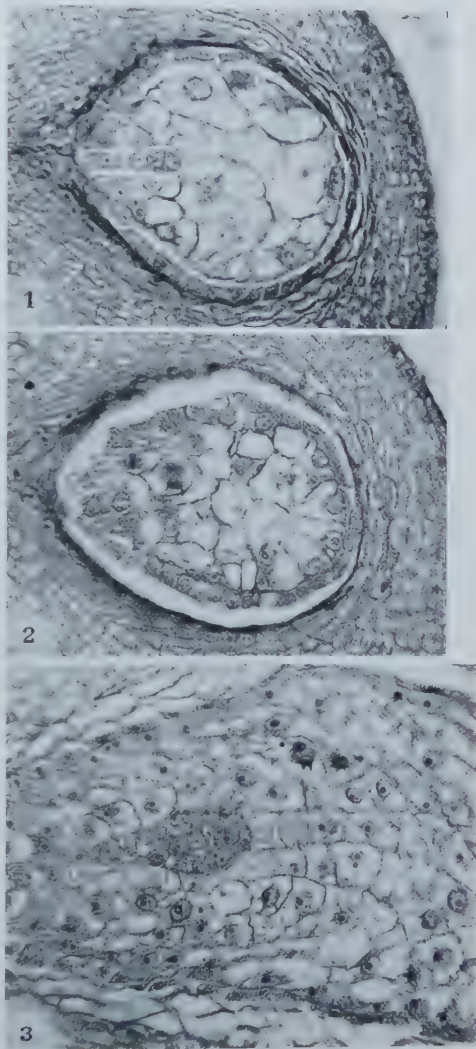
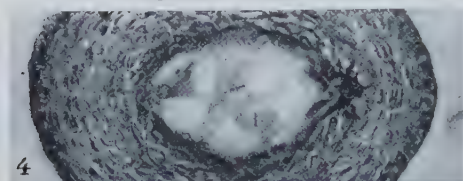


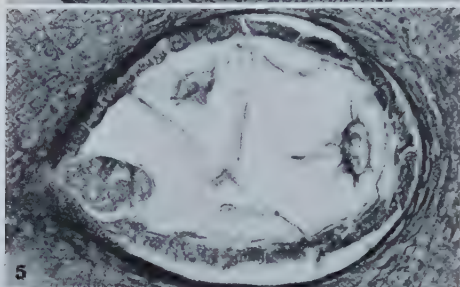
Abb. 1—3. Normal entwickelte Samenanlagen mit regelmäßig angeordneten und vakuolisierten Zellen des Endosperms, 240  $\times$

Abb. 1. *S. acaule* 4b  $\times$  *S. acaule* 4b, 6 Tage nach der Bestäubung

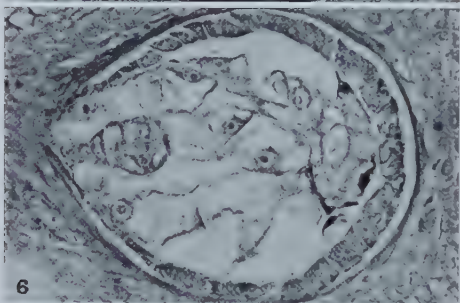
Abb. 2 u. 3. *S. acaule* 4b  $\times$  *S. phureja* 2b, 6 und 8 Tage nach der Bestäubung

Diploid  $\times$  PolyploidPolyploid  $\times$  Diploid

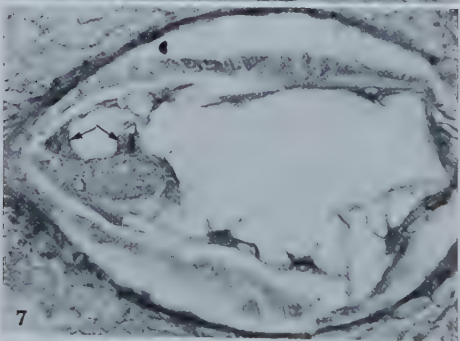
4



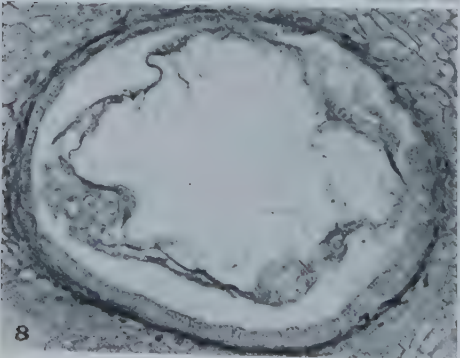
5



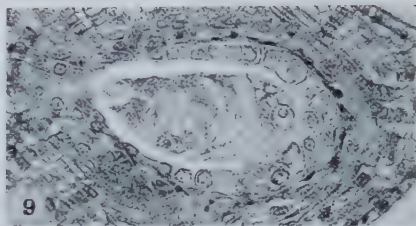
6



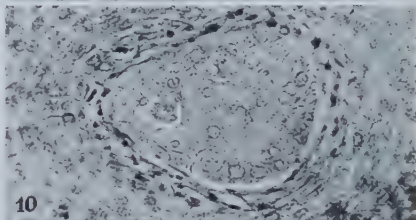
7



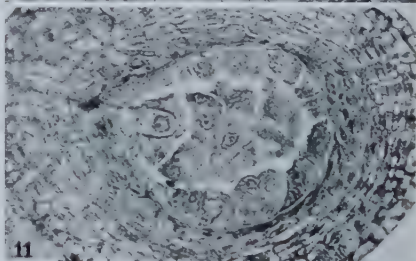
8



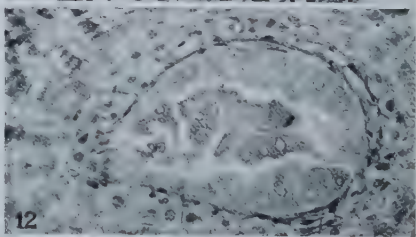
9



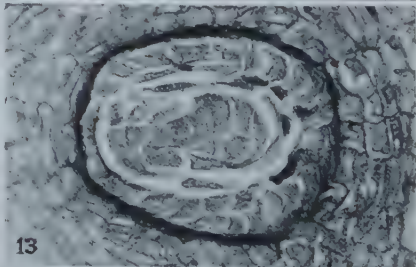
10



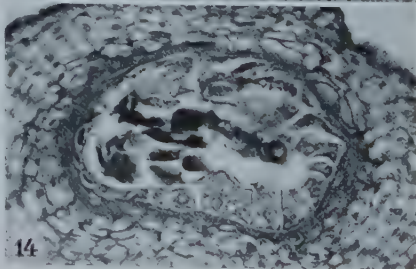
11



12



13



14

Abb. 4—14 (Unterschriften siehe Seite 27)



Ebenso wie in den Samenanlagen des reziproken Typs fielen hier Schwellungen des Endotheliums und eine geringere Zellteilungstätigkeit im Endosperm gegenüber dem normalen auf. Charakteristisch war jedoch, daß die Zellen des Endosperms, sofern solche gebildet wurden, stets sehr groß und zytoplasmaarm waren. Oft unterblieb auch die Bildung von Zellwänden ganz, es entstanden multinukleäre Zellen und stark vergrößerte Kerne.

Die ersten deutlicheren Anomalien traten unterschiedlich früh auf. Oft wurden sie bereits nach der ersten Teilung des sekundären Embryosackkernes gefunden. Abb. 4 zeigt einen Embryosack, in dem sich nach der ersten Teilung des sekundären Embryosackkernes nur eine schwach angedeutete Zellwand gebildet hat, nach der zweiten Teilung die Bildung einer Zellwand aber ganz unterblieb. Beide Kerne in der Abbildung rechts befinden sich trotzdem wiederum in Teilung. Es ist möglich, daß es derartige Samenanlagen mit frühen Störungen waren, die den großen Teil derjenigen Samenanlagen lieferten, bei denen sich das Endosperm schon nach 1—3 Kernteilungen in der Mitte zusammenzog und abstarb. Das wuchernde Endothelium füllte dann in fortgeschrittenen Stadien bald den ganzen Hohlraum des Embryosackes aus.

Ein kleinerer Teil der Samenanlagen entwickelte sich weiter und konnte beträchtliche Größe annehmen. Wenn es auf diese Weise zur Ausbildung von Zellen im Endosperm kam, waren sie groß und zytoplasmaarm (Abb. 5). Oft waren sie auch unregelmäßig aufgebaut (Abb. 6). Bei anderen weiter entwickelten Embryosäcken fehlten die Zellwände im Endosperm teilweise oder auch völlig. Hierbei ist schwer zu entscheiden, ob sie zusammenbrachen, wie es COOPER und BRINK (1945) für ähnliche Erscheinungen bei *Lycopersicon* annehmen, oder nie richtig bestanden, da die Kernteilungen wie in Abb. 4 und 7 auch ohne Bildung von Zellwänden weitergingen. In Abb. 7 besteht rechts eine große zytoplasmaarme Zelle, andere Zellwände bestehen im Endosperm nicht. Trotzdem sind in dieser Samenanlage in der Nähe des Embryos mindestens 6 Endospermkerne in Teilung, von denen in der Abbildung nur 2 sichtbar sind (s. Pfeile). In manchen derartigen Endospermen konnten bis 60 Kerne gezählt werden, und es

Abb. 4—8. Entwicklung des Endosperms in Kreuzungen vom Typ Diploid  $\times$  Polyploid,  $240 \times$

Abb. 4. Im Endosperm unterblieb die Bildung von Zellwänden, trotzdem befinden sich die Kerne in Teilung. *S. vernei* 2b  $\times$  *S. tuberosum*, 10 Tage

Abb. 5. Große, zytoplasmaarme Endospermzellen mit stark vergrößerten Kernen. Der Embryo (links) ist unregelmäßig gewachsen. *S. phureja* 2b  $\times$  *S. tuberosum*, 12 Tage

Abb. 6. Endosperm mit unregelmäßig angeordneten und zytoplasmaarmen Zellen. Auch die Zellen des Embryos sind stark vakuolisiert. *S. goniocalyx* 2b  $\times$  *S. tuberosum*, 10 Tage

Abb. 7. Nur rechts besteht noch 1 Zelle. Neben dem Embryo befinden sich 2 Kerne in Teilung (s. Pfeile). *S. acaule* 4b  $\times$  *S. acaule* 8b, 9 Tage

Abb. 8. Das Endosperm weist keine Zellwände mehr auf und der Embryo ist anomal gewachsen. *S. acaule* 4b  $\times$  *S. acaule* 8b, 9 Tage

Abb. 9—15. Entwicklung des Endosperms in Kreuzungen vom Typ Polyploid  $\times$  Diploid (Abb. 9—14  $240 \times$ )

Abb. 9. Frühes Stadium mit bereits auffallender Plasmadichte. *S. vernei* 4b  $\times$  *S. vernei* 2b, 7 Tage

Abb. 10. Die späteren Zellen des Endosperms lassen sich nur schwer von den anschwellenden Zellen des Endotheliums unterscheiden. *S. tuberosum*  $\times$  *S. goniocalyx* 2b, 9 Tage

Abb. 11. Das Endosperm wächst langsamer, die Zellen werden immer kompakter und es erscheinen breite Interzellulare. *S. tuberosum*  $\times$  *S. phureja* 2b, 12 Tage

Abb. 12. Trotz der Anomalien gehen die Zellteilungen weiter, s. Kernteilung rechts. *S. tuberosum*  $\times$  *S. goniocalyx* 2b, 9 Tage

Abb. 13. Kompakte Zellen und Interzellulare im Embryo, beginnender Zelltod im Endosperm. *S. acaule* 8b  $\times$  *S. acaule* 4b, 9 Tage

Abb. 14. Das Endosperm ist völlig abgestorben und das Endothelium angeschwollen. *S. tuberosum*  $\times$  *S. vernei* 2b, 10 Tage

hatte durchaus den Anschein, daß die Entwicklung auf diese Weise sehr weit gehen konnte. Meist war diese Art des „nukleären“ Endosperms innen um den Embryosack herum verteilt (Abb. 8) und es ist auffällig, daß die hier erfolgenden Kernteilungen auch wie in normalen nukleären Endospermen gleichzeitig vor sich gehen, sobald zusammenhängende Zytoplasmakomplexe entstanden sind. So befinden sich die 6 in der Samenanlage von Abb. 7 in Teilung gefundenen Kerne in Metaphase bis früher Anaphase. Auch in Abb. 4 sind die beiden sichtbaren Kerne und auf der anderen Seite der nur schwach angedeuteten Zellwand unter der Bildebene noch ein dritter in demselben Teilungsstadium (ein vierter ging wahrscheinlich mit dem folgenden Schnitt verloren).

Sowohl in weiter entwickelten Samenanlagen mit „nukleärem“ Endosperm wie auch in solchen, in denen die Zellwände des Endosperms noch bestanden, fielen stark vergrößerte Kerne auf, wie sie für Endopolyploidie (GEITLER 1953) typisch sind (Abb. 5).

Bei Samenanlagen, deren Entwicklung wie in Abb. 7 und 8 sehr weit ging, schwoll das Endothelium nicht sehr an bzw. wurde nicht meristematisch. Nach dem bald eintretenden endgültigen Absterben des Endosperms blieben die Höhlungen der Embryosäcke erhalten. Diese besonders groß gewordenen Samenanlagen dürften später die in diesen Kreuzungen verschieden häufig und in unterschiedlicher Größe auftretenden „tauben“ Samen ergeben.

In den Samenanlagen der 1952 und 1953 durchgeführten Kreuzungen zwischen *S. acaule* 4b bzw. *S. stoloniferum* 4b und *S. tuberosum* waren weiter entwickelte Samenanlagen seltener gewesen. Diese Kreuzungen waren im Freiland durch Gazezelte oder in einem Gewächshaus isoliert, dessen Temperatur sehr anstieg. Derartige Umstände wirken sehr ungünstig auf Befruchtung und Samenentwicklung und es ist deshalb in dieser Arbeit meist auf eine Isolierung verzichtet worden (s. Material und Methode). Die Endosperme waren sowohl in intra- als auch in interspezifischen Diploid-Polyploid-Kreuzungen unterschiedlich weit entwickelt, und da weit entwickelte Endosperme besonders gehäuft unter günstigen Kreuzungsbedingungen auftraten, wie im Sommer 1954 vor allem im Gewächshaus, scheint das Endosperm der Diploid-Polyploid-Kreuzungen besonders empfindlich auf ungünstige Außenbedingungen zu reagieren. Es muß jedoch betont werden, daß günstige Außenbedingungen die Entwicklung wohl länger ablaufen lassen können, aber die charakteristischen Erscheinungen der einzelnen Kreuzungstypen ausnahmslos erhalten blieben.

### III. Kreuzungstyp Polyploid $\times$ Diploid

Die Entwicklung des Endosperms in Kreuzungen vom Typ Polyploid  $\times$  Diploid wurde bei *S. acaule* 8b  $\times$  *S. acaule* 4b, *S. vernei* 4b  $\times$  *S. vernei* 2b, *S. tuberosum*  $\times$  *S. goniocalyx* 2b, *S. tuberosum*  $\times$  *S. vernei* 2b und *S. tuberosum*  $\times$  *S. phureja* 2b an Fixierungen vom 6., 8., 10. und 12. Tag beobachtet. Bei den übrigen in Tabelle 2 aufgeführten Kreuzungen dieses Typs wurden einzelne Stichproben (s. Tabelle 1) aus der Zeit vom 10.—15. Tag untersucht. Auch die 1954 besprochene Kreuzung *S. tuberosum*  $\times$  *S. stoloniferum* 4b gehört hierher und es ist als Beispiel in Abb. 15 ein Embryosack aus dieser Kreuzung wiedergegeben.



Tabelle 2. Entwicklung des Endosperms. Untersuchte Kombinationen mit Einschluß der Ergebnisse von 1952/53

Kreuzungstyp <i>Diploid</i> × <i>Polyploid</i> : große zytoplasmaarme Zellen, unterdrückte Zellwandbildung, synchrone Kernteilung, vergrößerte Kerne (s. Abb. 4—8)		<i>Polyploid</i> × <i>Diploid</i> : kleine, sehr mit Material angefüllte und nicht- vakuolisierte Zellen, große Interzellulare (s. Abb. 9—15)	
<i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)	× <i>S. acaule</i> 8b (polyploidisiert)	<i>S. acaule</i> 8b (polyploidisiert)	× <i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)
—	—	<i>S. vernei</i> 4b (polyploidisiert)	× <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)
<i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)	× <i>S. chacoense</i> 4b (polyploidisiert)	<i>S. chacoense</i> 4b (polyploidisiert)	× <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)
—	—	desgl.	× <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)
—	—	„	× <i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)
<i>S. stenotomum</i> 2b (normal diploid)	× <i>S. tuberosum</i> 4b (normal tetraploid)	—	—
<i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)	× desgl.	<i>S. tuberosum</i> 4b (normal tetraploid)	× <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)
<i>S. phureja</i> 2b (normal diploid)	× „	desgl.	× <i>S. phureja</i> 2b (normal diploid)
<i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)	× „	„	× <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)
<i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)	× „	„	× <i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)
<i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)	× <i>S. tuberosum</i> 4b (normal tetraploid)	—	—
<i>S. stoloniferum</i> 4b (normal tetraploid)	× desgl.	<i>S. tuberosum</i> 4b (normal tetraploid)	× <i>S. stoloniferum</i> 4b (normal tetraploid)

Normal entwickeltes Endosperm:  
von Beginn an zellulär, vakuolisierte Zellen,  
unabhängige Zellteilung (s. Abb. 1—3)

<i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)	× <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)
desgl.	× <i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)
<i>S. simplicifolium</i> 2b (normal diploid)	× <i>S. goniocalyx</i> 2b (normal diploid)
desgl.	× <i>S. vernei</i> 2b (normal diploid)
<i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)	× <i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)
<i>S. acaule</i> 4b (normal tetraploid)	× <i>S. phureja</i> 2b (normal diploid)

Auch hier erschienen erste Zellteilungsstadien des Endosperms zunächst normal, es fiel jedoch bald auf, daß die Zellen sehr inhaltsreich waren (Abb. 9). Später wurde die große Plasmadichte immer auffälliger, die Größe der Zellen nahm ab und sie waren nicht mehr vakuolisiert. Das Endosperm unterschied sich

hierdurch nicht mehr sehr von den normalerweise kaum vakuolisierten Zellen des Endotheliums, welches zudem anschwell und meristematisch wurde (Abb. 10).

Mit fortschreitendem Alter bildeten sich breitere Interzellulare (Abb. 11 und 15). Sehr auffällig war, daß die Zellteilung auch in ziemlich anomal gewachsenen Endospermen noch weiterging (Abb. 12 rechts). Schließlich setzte die Degeneration, die sich durch dunklere Färbung der Zellen bemerkbar machte, bei einzelnen der durch die Interzellulare getrennten Zellen ein, während andere Zellen noch normal waren (Abb. 13). Es folgte der völlige Zusammenbruch des

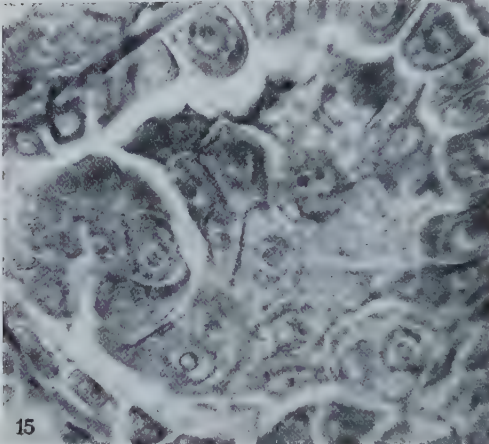


Abb. 15. Die nichtvakuolisierten und durch Interzellulare getrennten Zellen des Endosperms vom Typ Polyploid  $\times$  Diploid unter stärkerer Vergrößerung. *S. tuberosum*  $\times$  *S. stoloniferum* 4b, 6 Tage, 600  $\times$

Endosperms (Abb. 14), wodurch die Samenanlagen sich dann nicht mehr sehr von denjenigen der reziproken Kreuzung unterschieden, deren Entwicklung nicht weit gegangen war.

#### IV. Die Entwicklung der Embryonen

Die Entwicklung der Embryonen war in der im Gewächshaus durchgeführten Kreuzung *S. acaule* 8b  $\times$  *S. acaule* 4b besonders weit gegangen und es ist anzunehmen, daß dies durch die günstigeren Wachstumsbedingungen gegenüber den im Freiland durchgeführten Kreuzungen gefördert wurde. Diese Embryonen wiesen hier wie das

Endosperm des Typs Polyploid  $\times$  Diploid nichtvakuolisierte Zellen und in älteren Samenanlagen auch große Interzellulare auf (Abb. 13). Entsprechend wurde auch eine stärkere Vakuolisierung der Zellen von Embryonen aus Kreuzungen des Typs Diploid  $\times$  Polyploid beobachtet (Abb. 6). Bemerkenswert ist ebenfalls, daß hier oft Embryonen gefunden wurden, die wie in Abb. 5, 6 und 8 unregelmäßig gewachsen waren.

Die embryologischen Untersuchungen haben demnach ergeben, daß sich an Hand der Ausbildung des Endosperms drei klar voneinander trennbare Typengruppen unterscheiden lassen: 1. Normal mit einem regelmäßig aufgebauten Endosperm (Abb. 1—3), 2. Diploid  $\times$  Polyploid mit sehr großen plasmaarmen Endospermzellen, oft fehlender Zellwandbildung, synchroner Kernteilung und stark vergrößerten Kernen (vermutlich Endopolyploidie) (Abb. 4—8), 3. Polyploid  $\times$  Diploid mit kleineren Endospermzellen, die stark mit Inhaltsstoffen angefüllt und später durch weite Interzellulare getrennt waren (Abb. 9—15). Diese Entwicklung konnte in Samenanlagen beider Kreuzungstypen sehr weit gehen, denn auch in völlig anomal gewordenen Endospermen gab es noch Zell- bzw. Kernteilungen, und es waren in besonders weit entwickelten Endospermen bis zu 60 Kerne entstanden.



Auch die meist nicht sehr weit entwickelten Embryonen wiesen Anzeichen dafür auf, daß bei deren Zellen die gleichen Verhältnisse vorliegen wie in den Zellen des Endosperms.

Die beiden tetraploiden Wildarten *S. acaule* und *S. stoloniferum* verhielten sich in allen Einzelheiten der Endospermausbildung wie Diploide, wobei besonders hervorzuheben ist, daß sich das Endosperm der Kreuzung *S. acaule*  $4b \times S. phureja$   $2b$  (Abb. 2 und 3) normal entwickelte.

## D. Besprechung der Ergebnisse

### I. Der Zusammenhang zwischen Ploidiestufe und Kreuzbarkeit

Bei *Solanum* schien zwischen Kreuzbarkeit und Chromosomenzahl keine Beziehung zu bestehen, denn häufig ließen sich Arten sehr leicht miteinander kreuzen, deren Chromosomenzahl völlig verschieden ist (z. B. *S. demissum*  $2n = 72$  mit *S. tuberosum*  $2n = 48$  oder polyploidisiertes *S. acaule*  $2n = 96$  mit *S. tuberosum*). Die Kreuzbarkeit ließ sich zudem oft anscheinend ohne Rücksicht auf die Chromosomenzahlen durch eine Polyploidisierung erheblich verbessern. Wie bei anderen Arten wurde bei *Solanum* daher auch angenommen, daß Polyploidie eine unspezifische „Auflockerung“ der Kreuzbarkeit mit sich brächte (s. BRINK und COOPER 1947, RUDOLF und ROSS 1952).

Das fast vollständige Absterben der befruchteten Samenanlagen in den intra-spezifischen Kreuzungen *S. acaule*  $4b \times 8b$  und reziprok und *S. vernei*  $4b \times 2b$  hat gezeigt, daß bei *Solanum* dieselbe Sterilitätsbarriere zwischen normalen und polyploidisierten Formen derselben Art besteht, wie sie bei den *Angiospermen* in mehr oder weniger ausgeprägter Form weit verbreitet ist (MÜNTZING 1936). Wie bei diesen Kreuzungen ging die Befruchtung in den Kreuzungen zwischen diploiden Wildarten und *S. tuberosum* wie auch zwischen diploiden Wildarten und dem künstlich polyploidisierten *S. chacoense* ganz normal vor sich, und die befruchteten Samenanlagen starben ebenso zahlreich und unter denselben Erscheinungen der reziprok unterschiedlichen Ausbildung des Endosperms ab. Entsprechend traten auch mehrere Bastarde mit dem unreduzierten Chromosomensatz des diploiden Elters auf und von den erwarteten triploiden Bastarden entstand nur einer. Es ist außerdem bekannt, daß sich die Kreuzungen zwischen diploiden Wildarten und *S. tuberosum* dadurch erheblich erleichtern lassen, daß man tetraploide Formen aus ersteren herstellt (langjährige Beobachtungen im eigenen Institut, s. auch Zusammenfassung bei SWAMINATHAN und HOWARD 1953). Diese Beobachtungen zeigen, daß die wesentlichsten Kreuzungsschwierigkeiten hier nicht auf Artdifferenzen beruhen. Sie werden wie bei intra-spezifischen Diploid-Polyploid-Kreuzungen durch die unterschiedliche Ploidiestufe der Eltern verursacht, d. h. durch quantitative Differenzen.

Das tetraploide *S. acaule* ließ sich jedoch auffallend leicht mit dem diploiden *S. phureja* kreuzen und das Endosperm entwickelte sich völlig normal. Auch von *S. stoloniferum*  $4b$  ist bekannt, daß es sich leicht mit diploiden Arten kreuzt (PROPACH 1938). Beide Arten dagegen lassen sich nur sehr schwer mit *S. tuberosum* kreuzen und die Samenanlagen sterben unter denselben charakteristischen

Erscheinungen der reziprok<sup>1</sup> unterschiedlichen Ausbildung des Endosperms der Diploid-Polyploid-Kreuzungen ab. Auch hier treten Bastarde mit dem unreduzierten Chromosomensatz der normalen Wildarten auf (v. WANGENHEIM 1954) und entsprechend läßt sich die Kreuzung durch Polyploidisierung dieser Arten, d. h. durch Herstellung oktoploider Formen, erheblich erleichtern (BUKASOV 1938, LAMM 1945, SWAMINATHAN 1951). Beide Arten verhalten sich demnach genauso wie Diploide und die Kreuzungsschwierigkeiten zwischen ihnen und *S. tuberosum* beruhen im wesentlichen ebenfalls auf quantitativen Unterschieden, die hier zwar nicht in der Zahl der Chromosomensätze (da ja beide Eltern tetraploid sind), sondern in deren Wirksamkeit bestehen müssen.

Das Verhalten von *S. acaule* und *S. stoloniferum* kann nicht dadurch erklärt werden, daß diese Arten bezüglich ihrer Paarungsverhältnisse in der Meiose einen ausgeprägt allotetraploiden Charakter tragen. Die Kreuzbarkeit mit *S. tuberosum* wird nicht nur durch Autopolyploidie, sondern auch durch die Herstellung von Amphidiploiden (= Allopolyploidie) in der gleichen Weise erleichtert (TOXOPEUS 1947, TORKA 1950, SWAMINATHAN 1951).

Die hexaploiden Arten *S. demissum* und *S. spectabile* verhalten sich wie künstliche Tetraploide bzw. wie *S. tuberosum*. Dieses ist den allgemeinen Kreuzbarkeitsverhältnissen (BAINS und HOWARD 1950, DODDS 1950, PRAKKEN und SWAMINATHAN 1952, HAWKES 1954, SWAMINATHAN und HOUGAS 1954) und den embryologischen Untersuchungen von BEAMISH (1955) zu entnehmen. Diese Autorin zeigt in ihren Abbildungen das typische  $4b \times 2b$ -Endosperm aus der Kreuzung *S. demissum*  $\times$  diploide Arten. Allerdings scheinen hier graduelle Unterschiede zu bestehen.

Die Ergebnisse zeigen, daß bei *Solanum* die Chromosomenzahl eine entscheidende Bedeutung für die Kreuzbarkeit hat. Der Zusammenhang wird jedoch dadurch verdeckt, daß die Wirksamkeit der Genome unterschiedlich sein kann. Vermutlich wurde diese im Laufe der Evolution durch besondere Auslesebedingungen abgeändert und steht wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem Auftreten von Polyploiden mit dem Habitus von Diploiden bzw. Pseudogigasformen (TISCHLER 1918, 1929, SCHWANITZ und PIRSON 1955). Wenn deshalb bei *Solanum* eine Kreuzung durch die Polyploidisierung des einen Kreuzungspartners erleichtert wird, beruht dieses nicht etwa auf einer allgemeinen Auflockerung der Kreuzbarkeitsverhältnisse, sondern auf einer spezifischen Angleichung der Kreuzungspartner, bei denen vorher entweder Differenzen in ihrer Chromosomenzahl oder in der Wirksamkeit der Genome bestanden haben.

Hiermit erklärt sich auch das eigentümliche Auftreten von Bastarden mit dem unreduzierten Chromosomensatz eines Elters, d. h. der unreduzierten Gameten. Diese traten bei *Solanum* in bestimmten Kreuzungen so häufig auf, daß die normalen Bastarde mit der erwarteten Chromosomenzahl oft gar nicht gefunden wurden. Es ist deshalb vermutet worden, daß die Gameten durch eine Reizwirkung erst nachträglich verdoppelt werden (KOOPMANS und VAN DER BURG 1952). Sie wurden aber nur in denjenigen Kreuzungen gefunden, die sich durch die Polyploidisierung des Elters mit der niedrigeren funktionellen Ploidie-

<sup>1</sup> Bei *S. acaule* war dieses nur in derjenigen Kreuzung festzustellen, in der es als Mutter benutzt wurde, da die andere Kreuzung durch das unterbundene Wachstum des Pollenschlauches von *S. acaule* im Griffel von *S. tuberosum* (LAMM 1953, v. WANGENHEIM 1954) nicht hergestellt werden konnte.



stufe erleichtern lassen, und zwar stammten sie auch immer von diesem Elter (v. WANGENHEIM 1954). Die unreduzierten Gameten stellen damit durch ihr spontanes Auftreten dieselben Verhältnisse her, als ob der betreffende Elter polyploid gemacht worden wäre. Da in jedem Fruchtknoten sehr viele Samenanlagen vorhanden sind und die normalen Zygoten in diesen Kreuzungen meist restlos absterben, kommt es zu einem gehäuften Auftreten von Bastarden mit dem unreduzierten Chromosomensatz eines Elters. Es erklärt sich hieraus auch die häufig diskutierte Tatsache, daß derartige Bastarde noch nie in Kreuzungen innerhalb von *S. tuberosum* oder Wildarten unter sich gefunden wurden, da unreduzierte Gameten bei Kreuzungen auf gleicher funktioneller Ploidiestufe dieselben Verhältnisse wie bei Diploid-Polyploid-Kreuzungen schaffen.

## II. Zur Ursache der Degeneration des Endosperms in Diploid-Polyploid-Kreuzungen

Die Frage nach der Ursache des Zusammenbruchs der Samenanlagen in Diploid-Polyploid-Kreuzungen ist häufig untersucht worden (MÜNTZING 1930, 1933, 1936, FAGERLIND 1937, SANSOME, SATINA und BLAKESLEE 1942, COOPER und BRINK 1945, HÅKANSSON und ELLERSTRÖM 1950, COOPER 1951, LÖWENSTEIN 1951, HÅKANSSON 1952, 1953, VALENTINE 1954 u. a.). Nach MÜNTZING (1953) sind jedoch bis auf die eine Feststellung, daß die Ursachen rein quantitativer Natur sind (MÜNTZING 1930), keinerlei Einzelheiten klargelegt worden.

1. *Störungen der Gewebebeziehungen.* Es ist vermutet worden, daß die Samenanlagen aus Diploid-Polyploid-Kreuzungen deshalb absterben, weil die Chromosomenzahlen der Gewebe von Mutter, Endosperm und Embryo bei Kreuzungen zwischen Diploiden und Polyploiden nicht mehr im Verhältnis 2:3:2 stehen (MÜNTZING). FAGERLIND (1937) machte jedoch darauf aufmerksam, daß dieses unwahrscheinlich ist und führte eine Reihe von Argumenten gegen diese Erklärung an. Die klaren Verhältnisse bei *Solanum* bestätigen seine Ansicht. Die hier oft auftretenden unreduzierten Embryosäcke in der Kreuzung Diploid  $\times$  Tetraploid<sup>1</sup> wirken ebenso günstig und entwickeln sich so normal wie bei einer Verdoppelung der diploiden Mutter (s. oben), obwohl bei dem Auftreten eines unreduzierten Embryosackes in dieser Kreuzung das Verhältnis zwischen den Chromosomenzahlen der Mutter und des Endosperms erheblich mehr verändert wird (2:6:4) als bei der normalen Kreuzung  $2b \times 4b$  (2:4:3). Damit ist die eine Möglichkeit der Auslösung der Fehlentwicklung des Endosperms durch Störungen der Beziehungen zwischen den Geweben der Mutter und des Endosperms ausgeschlossen, gleichgültig, ob man sich diese durch besondere Ernährungsbedingungen oder durch Wuchsstoffe kontrolliert vorstellt.

Es läßt sich auch keine Abhängigkeit des Endosperms vom Embryo feststellen, da das Endosperm oft schon degenerierte, ehe die Eizelle sich geteilt hatte, oft aber schon große Embryonen vorhanden waren, und das Endosperm sich trotzdem anomal entwickelte. Die ersten sichtbaren Störungen traten stets im Endosperm auf. Erst nachdem dieses sich zurückzog, begann das Endothelium meristematisch zu werden. Es wurde sogar beobachtet, daß im Embryo Zellteilungen stattfanden, obwohl das Endosperm schon völlig degeneriert war (v. WANGENHEIM 1954).

<sup>1</sup> Im folgenden sollen der Verständlichkeit wegen nur Diploide und Polyploide betrachtet werden, die sich auch als solche verhalten und nicht abgeändert wurden, wie es in dem vorhergehenden Abschnitt behandelt wurde.

Eine Ursache kann auch nicht darin gesucht werden, daß das schwellende Endothelium wachstumshemmende Stoffe ausscheidet, wie RAPPAPORT, SATINA und BLAKESLEE (1950) annehmen, da in normalen Samen von *Datura* ebenfalls Hemmstoffe gebildet werden (HÖHN 1952, s. Einzelheiten bei v. WANGENHEIM 1954).

COOPER und BRINK (1940) prägten den Begriff der „somatoplastischen“ Sterilität für Kreuzungsschwierigkeiten, die durch das Absterben der Samenanlagen in ähnlicher Weise wie bei Diploid-Polyploid-Kreuzungen hervorgerufen werden. Sie hatten hierfür bestimmte Erscheinungen im mütterlichen Gewebe verantwortlich gemacht, kamen dann aber (BRINK und COOPER 1947) zu dem Schluß, daß die Ursachen in der genetischen Zusammensetzung des Endosperms selbst zu suchen wären.

Es erscheint damit ausgeschlossen, daß die anomale Entwicklung des Endosperms auf gestörte Gewebebeziehungen zurückzuführen ist.

Das Endosperm teilt sich trotz deutlicher Anomalien noch relativ lange weiter. Die hierbei stattfindende Verstärkung der Merkmale beider Kreuzungsrichtungen macht es auch unwahrscheinlich, daß Reservestoffe usw. im Über- oder Unterschuß vorhanden sind. Es hat deshalb eher den Anschein, daß die genetische (sensu latu) Zusammensetzung des Endosperms selbst abgeändert wurde.

2. *Abänderung der genetischen Zusammensetzung.* Die Erscheinungen im Endosperm der Diploid-Polyploid-Kreuzungen treten auch immer dann auf, wenn die Kreuzungspartner derselben selbstfertilen Art angehören, wie z. B. in der Kreuzung *S. acaule* 4b  $\times$  8b und reziprok. Vom Zellkern allein aus gesehen besteht aus diesem Grunde der einzige Unterschied zwischen dem sich normal und dem sich anomal entwickelnden Endosperm nur in der unterschiedlichen Anzahl der vereinigten Chromosomensätze. Die Untersuchungen über Polyploidie haben aber ergeben, daß sich die Erscheinungen der Polyploidie bei einer Vermehrung der Chromosomensätze stetig steigern und schließlich pathologisch werden (v. WETTSTEIN 1924, STRAUB 1940, SCHWANITZ 1954). Dieses ist besonders dann zu erwarten, wenn man annimmt, daß bei einer gleichmäßigen Vermehrung aller Gene durch Autopolyploidie Verschiebungen der Genwirkungen stattfinden (MELCHERS 1946), wenn nicht Regulationen eintreten, wie sie v. WETTSTEIN und STRAUB (1942) an polyploidem *Bryum* beobachteten. Da aber die Zahl der Chromosomensätze im hexaploiden Endosperm der 4b  $\times$  4b-Kreuzungen nicht zu hoch ist, um eine normale Entwicklung zuzulassen, dürfte die anomale Differenzierung des tetraploiden bzw. pentaploiden Endosperms der Diploid-Polyploid-Kreuzungen auf rein kerngenetischem Wege kaum erklärlich sein.

Eine andere Erklärung ergibt sich unter Hinzuziehung des Plasmons (= Gesamtheit aller extranukleärer Gene). Bei der Entstehung von Polyploidie, bei der wohl meist eine Unterdrückung der Zellwandbildung in teilungsbereiten Zellen vorausgeht, dürfte das ursprüngliche Verhältnis aller Erbträger der Zelle zueinander ungefähr erhalten bleiben, d. h. es geht mit der Vermehrung der Chromosomensätze auch eine entsprechende Vermehrung des Plasmons einher. Diese Annahme wird durch v. WETTSTEIN (1924) sehr wahrscheinlich gemacht. Er fand bei seinen Untersuchungen an Laubmoosen nicht nur, daß durch die Vermehrung der Chromosomensätze eine Zunahme der Zellvolumina stattfindet, sondern er konnte auch auszählen, daß die Zahl der Chloroplasten bei einer Verdoppelung bzw. Vervielfachung der Chromosomensätze ebenfalls um ungefähr das Doppelte bzw. Vielfache ansteigt. Da aber bei einer Befruchtung mit dem



Pollenschlauch nur sehr wenig oder kein Zytoplasma in den Embryosack übertragen wird, muß im befruchteten Embryosack dann ein Mißverhältnis zwischen Plasmon und Genom entstehen, wenn beide Eltern nicht auf der gleichen Ploidiestufe stehen. In der Kreuzung  $2b \times 4b$  entsteht ein tetraploider sekundärer Embryosackkern und es ist im Verhältnis zur Menge an Plasmon, die nur für einen triploiden Kern bestimmt ist, ein ganzer Chromosomensatz zuviel vorhanden. In der reziproken Kreuzung entsteht ein pentaploider sekundärer Embryosackkern an Stelle eines hexaploiden und es fehlt im Verhältnis zum Plasmon ein Chromosomensatz.

Die Erscheinungen im Endosperm der Diploid-Polyploid-Kreuzungen scheinen sich gut durch derartige quantitative Verschiebungen zwischen Genom und Plasmon erklären zu lassen, da die Veränderungen stets reziprok verschieden sind und auch das mikroskopische Bild hierfür spricht. Wesentlich könnte sein, daß dieselben Erscheinungen auch in den Zellen der Embryonen angedeutet waren. Dem scheint das gelegentliche Auftreten von triploiden Bastarden aus Kreuzungen zwischen Diploiden und Tetraploiden zu widersprechen. Es steht allerdings völlig offen, auf welche Weise sie entstanden und ob die Embryonen sich vielleicht trotz des anomalen Endosperms weit genug entwickelten. Es muß jedoch bedacht werden, daß eine intraindividuelle Selektion (MICHAELIS 1949) von Zellen mit einem günstigeren Verhältnis zwischen Genom und Plasmon stattfinden kann. Diese wird bei Embryonen wahrscheinlich sehr viel leichter zu ortsgemäßen Geweben führen als im Endosperm, da eine Zellkonkurrenz mit sukzessiver Auslese leichter zur Bildung eines Vegetationspunktes führt als zu dem sich allseitig ausbreitenden Gewebe des Endosperms. Hierauf mögen die Wachstumsunregelmäßigkeiten bei Embryonen aus der Kreuzung Diploid  $\times$  Polyploid hinweisen. Auch eine Beobachtung von COOPER (1951, Abb. 6—10) spricht hierfür, der in dem typischen plasmaarmen und teilweise nukleären Endosperm der  $2b \times 4b$ -Kreuzung bei Mais plasmareichere embryonale Zellen fand, die sich nicht etwa zu Endospermgewebe, sondern zu kleinen Proembryonen mit deren typischer Gestalt formten. Auch HÅKANSSON (1953) fand bei Gerste im Endosperm der  $2b \times 4b$ -Kreuzung Inseln mit embryonalen Zellen.

Beobachtungen, aus denen sich eine Bedeutung der Quantität des Plasmons für die Differenzierung pflanzlicher Gewebe entnehmen läßt, machten SINNOT und BLOCH (nach BÜNNING), BÜNNING (1951), BÜNNING und BIEGERT (1953), TSCHERMAK-WOES, E. und G. HASITSCHKA (nach LANG 1954). Die Autoren fanden, daß Differenzierungsvorgänge vielfach mit inäqualen Zellteilungen beginnen, bei denen eine plasmaärmere und eine plasmareichere Zelle entsteht. Nur die plasmareichere Zelle übernimmt die weitere Entwicklung und führt zur Ausbildung von verschieden spezialisierten Zellen und Geweben.

### Zusammenfassung

Kreuzungsversuche und embryologische Untersuchungen haben ergeben, daß bei *Solanum* zwischen Chromosomenzahl und Kreuzbarkeit ein enger Zusammenhang besteht, aber die Wirksamkeit der Genome unterschiedlich sein kann. Bei Kreuzungen zwischen Eltern mit ungleicher Ploidiestufe (Diploid-Polyploid-Kreuzungen) bzw. mit ungleicher Wirksamkeit der Genome sterben die Samenanlagen normalerweise ab. Hierbei wurden die ersten sichtbaren

Anomalien stets zuerst im Endosperm gefunden. Sie traten in den reziproken Kreuzungen sehr unterschiedlich auf (Diploid ♀ × Polyploid ♂: große zytoplasmaarme Zellen, unterdrückte Zellwandbildung, synchrone Kernteilung, stark vergrößerte Kerne; Polyploid ♀ × Diploid ♂: kleinere, sehr mit Inhaltsstoffen ausgefüllte und nichtvakuolisierte Zellen, breite Interzellulare). Die Zell- bzw. Kernteilungen wurden in beiden Kreuzungsrichtungen trotz der Anomalien fortgesetzt und es konnten derartige Endosperme mit bis zu 60 Kernen bzw. Zellen entstehen.

Derartige Kreuzungsschwierigkeiten bestehen zwischen *S. tuberosum* und den meisten Wildarten und können durch Polyploidisierung der Wildarten ebenso wie durch das spontane Auftreten von unreduzierten Gameten der Wildarten beseitigt werden. Hierdurch erklärt sich, daß Bastarde mit dem unreduzierten Chromosomensatz eines Elters bisher nur in denjenigen Kreuzungen gefunden wurden, bei denen Differenzen in der Chromosomenzahl oder in der Wirksamkeit der Genome der Eltern bestehen.

Es wird diskutiert, daß die Ursache der Degeneration des Endosperms in Diploid-Polyploid-Kreuzungen nicht auf gestörten Gewebebeziehungen beruhen kann, sondern in einer Abänderung der Gewebedifferenzierung zu suchen ist, die durch eine quantitative Verschiebung zwischen Plasmon und Genom bei Befruchtung einer diploiden Mutter mit diploidem, kein oder wenig Zytoplasma mit sich führendem Pollen bzw. einer polyploiden Mutter mit haploidem Pollen hervorgerufen wird.

### Literatur

- BAINS, G. S., and H. W. HOWARD: Haploid *S. demissum* plants. *Nature* (Lond.) **166**, 795 (1950). — BEAMISH, K. J.: Seed failure following hybridisation between the hexaploid *S. demissum* and four diploid *Solanum* species. *Amer. J. Bot.* **42**, 297—304 (1955). — BRINK, R. A., and D. C. COOPER: The endosperm in seed development (concluded). *Bot. Review* **9**, 479—541 (1947). — BÜNNING, E.: Über die Differenzierungsvorgänge in der *Cruciferen*wurzel. *Planta* (Berl.) **39**, 126—153 (1951). — BÜNNING, E., u. F. BIGGERT: Die Bildung der Spaltöffnungsinitialen bei *Allium cepa*. *Z. Bot.* **41**, 17—39 (1953). — BUKASOV, S. M.: Artbastardierung bei Kartoffeln. *Izv. Akad. Nauk SSSR*, Ser. Biol. **1938**, Nr 3, 711—723. — COOPER, D. C.: Caryopsis development following matings between diploid and tetraploid strains in *Zea mays*. *Amer. J. Bot.* **38**, 702—708 (1951). — COOPER, D. C., and R. A. BRINK: Somatoplastic sterility as a cause of seed failure after interspecific hybridisation. *Genetics* **25**, 593—617 (1940). — Seed collapse following matings between diploid and tetraploid races of *Lycopersicon pimpinellifolium*. *Genetics* **30**, 376—401 (1945). — DODDS, K. S.: Polyhaploids of *S. demissum*. *Nature* (Lond.) **166**, 795 (1950). — FAGERLIND, F.: Embryologische, zytologische und bestäubungsexperimentelle Studien in der Familie *Rubiaceae* nebst Bemerkungen über einige Polyploiditätsprobleme. *Acta Horti bergiani* **11**, 195—470 (1937). — GEITLER, L.: Endomitose und endomitotische Polyploidisierung. *Protoplasmatologia* **VI C**, Wien 1953. — HÅKANSSON, A.: Seed development after 2x, 4x crosses in *Galeopsis pubescens*. *Hereditas* (Lund) **38**, 425—448 (1952). — Endosperm formation after 2x—4x crosses in certain cereals, especially in *Hordeum vulgare*. *Hereditas* (Lund) **39**, 57—64 (1953). — HÅKANSSON, A., u. S. ELLERSTRÖM: Seed development after reciprocal crosses between diploid and tetraploid rye. *Hereditas* (Lund) **36**, 256—296 (1950). — HAWKES, J. G.: New *Solanum* species in subsection *Hyperbasanthrum* BITT. *Ann. a. Mag. Natur. History* **7**, 689—710 (1954). — HÖHN, K.: Nachreifstudien an *Datura*-Samen. *Planta* (Berl.) **40**, 407—418 (1952). — KOOPMANS, A., u. A. H. VAN DER BURG: Chromosome number and chromosome behaviour of F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> plants of the cross *Solanum phureja* × *Solanum tuberosum*. *Genetica* ('s-Gravenhage) **26**, 102—116 (1952). — LAMM, R.: Cytogenetic studies in *Solanum* Sect. *Tuberosum*. *Hereditas* (Lund) **31**, 1—128 (1945). — Investigations on some tuberbearing *Solanum*-hybrids. *Hereditas* (Lund) **39**, 97—112 (1953). — LANG, A.: Entwicklungsphysiologie. *Fortschr.* **16**,



400—475 (1954). — LÖWENSTEIN, J. Prinz zu: Über die Befruchtungsverhältnisse zwischen diploidem und tetraploidem Roggen. Z. Pflanzenzüchtg **31**, 104—133 (1951). — MELCHERS, G.: Die Ursachen für die bessere Anpassungsfähigkeit der Polyploiden. Z. Naturforsch. **1**, 160—165 (1946). — MICHAELIS, P.: Über die Beseitigung von Entwicklungsstörungen auf dem Wege der Plasmaabänderung. Züchter **19**, 326—333 (1949). — MÜNTZING, A.: Über Chromosomenvermehrung in *Galeopsis*-Kreuzungen und ihre phylogenetische Bedeutung. Hereditas (Lund) **14**, 153—172 (1930). — Hybrid incompatibility and the origin of polyploidy. Hereditas (Lund) **18**, 33—55 (1933). — The evolutionary significance of autopolyploidy. Hereditas (Lund) **21**, 263—382 (1936). — Ärtlighetsforskning. En översikt av metoder och huvudresultat. Stockholm 1953. — PRAKKEN, R., u. M. S. SWAMINATHAN: Cytological behaviour of some interspecific hybrids in the genus *Solanum* Sect. *Tuberosum*. Genetica ('s-Gravenhage) **26**, 77—101 (1952). — PROPACH, H.: Kreuzbarkeit von *Solanum*-Arten untereinander und mit Kulturkartoffeln und die Fertilität der Bastarde. Forschungsdienst **6**, 311—314 (1938). — RAPPAPORT, J., S. SATINA and A. F. BLAKESLEE: Extracts of ovular tumors and their inhibition of embryo growth in *Datura*. Amer. J. Bot. **37**, 586—595 (1950). — REDDICK, D.: Development of blight immune varieties. Amer. Potato **J.** **20**, 118—126 (1943). — RIEMAN, G. H., D. C. COOPER and R. W. HOUGAS: Potato varieties derived from species hybrids. Amer. Potato **J.** **31**, 1—11 (1954). — RUDOLF, W.: Der augenblickliche Stand und die Aussichten der Züchtung resistenter Sorten der Kartoffel. Züchter **24**, 48—55 (1954). — RUDOLF, W., u. H. ROSS: Grundlagen der Kartoffelzüchtung. Züchter **22**, 119—127 (1952). — Die Grundlagen der Resistenzzüchtung bei Kartoffeln. Kartoffelbau **5**, 208—209 (1954). — SANSOME, M. S., S. SATINA and A. F. BLAKESLEE: Disintegration of ovules in tetraploid-diploid and in incompatible species crosses in *Datura*. Bull. Torrey Bot. Club **69**, 405—420 (1942). — SCHWANITZ, F.: Genetik und Evolutionsforschung bei Pflanzen. Die Evolution der Organismen, S. 425—551. Stuttgart 1954. — SCHWANITZ, F., u. H. PIRSON: Chromosomengröße, Zellgröße und Zellenzahl bei einigen diploiden Gigaspflanzen. Züchter **25**, 221—229 (1955). — STRAUB, J.: Quantitative und qualitative Verschiedenheiten innerhalb polyploider Pflanzenreihen. Biol. Zbl. **60**, 659—669 (1940). — SWAMINATHAN, M. S.: Einige Verfahren über die Verwendung wilder *Solanum*-Arten zu Zuchtzwecken. Züchter **20**, 358—360 (1950). — Notes on the induced polyploids in the tuberbearing *Solanum* species and their crossability with *S. tuberosum*. Amer. Potato **J.** **28**, 472—489 (1951). — SWAMINATHAN, M. S., and R. W. HOUGAS: Cytogenetic studies in *Solanum verrucosum* variety *spectabilis*. Amer. J. Bot. **41**, 645—651 (1954). — SWAMINATHAN, M. S., u. H. W. HOWARD: The cytology and genetics of the potato (*Solanum tuberosum*) and related species. Bibliogr. genet. ('s-Gravenhage) **16**, 1—192 (1953). — TISCHLER, G.: Untersuchungen über den Riesenwuchs von *Phragmites communis* var. *pseudodonax*. Ber. dtsch. bot. Ges. **36**, 549 (1918). — Revision früherer Chromosomenzählungen und anschließende Untersuchungen. Planta (Berl.) **8**, 685—697 (1929). — Das Problem der Basis-Chromosomenzahlen bei den Angiospermen-Gattungen und -Familien. Cytologia (Tokyo) **19**, 1—10 (1954). — TJIO, J. H., and A. LEVAN: The use of oxychinolin in chromosome analysis. An. Estacion Exper. Aula Dei **2**, 21—62 (1950). — TORKA, M.: II. Breeding potatoes with resistance to the Colorado beetle. Amer. Potato **J.** **27**, 263—271 (1950). — TOXOPEUS, H. H.: Preliminary account on a new amphidiploid: *Solanum artificiale*. Genetica ('s-Gravenhage) **24**, 93—96 (1947). — VALENTINE, H.: Seed-incompatibility. 8. Internat. Bot. Kongr., Sect. 9a **10**, 180 (1954). — WANGENHEIM, K.-H. v.: Zur Ursache der Kreuzungsschwierigkeiten zwischen *S. tuberosum* L. und *S. acule* BITT. bzw. *S. stoloniferum* SCHLECHTD. et BOUCHÉ. Z. Pflanzenzüchtg **34**, 7—48 (1954). — Ursachen von Sterilität und schlechter Kreuzbarkeit bei Kartoffeln. Z. Pflanzenzüchtg. **36**, 445—456 (1956). — WETTSTEIN, F. v.: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. Z. Vererbungslehre **33**, 1—236 (1924). — WETTSTEIN, F. v., u. J. STRAUB: Experimentelle Untersuchungen zum Artbildungsproblem. III. Weitere Beobachtungen an polyploiden *Bryum*- Sippen. Z. Vererbungslehre **80**, 271—280 (1942).

Dr. KARL-HARTMUT Frhr. v. WANGENHEIM, Max-Planck-Institut für Züchtungs-  
forschung (Erwin-Baur-Institut), Köln-Vogelsang

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.  
**WILDE OENOTHEREN IN SÜDWESTDEUTSCHLAND \***

Von

ADOLF KAPPUS

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. Dezember 1956)

**A. Einleitung**

Viele unserer einheimischen Pflanzen sind streng konstante Arten, die sich unverändert von Generation zu Generation fortpflanzen, ohne dabei neue Arten zu bilden. Auch fremdländische Arten, die sich einbürgern konnten, blieben im wesentlichen ihren Eltern im Herkunftslande gleich. Eine der Ausnahmen von dieser Konstanz macht die Gattung *Oenothera*. Nicht nur, daß in ihrer Heimat Amerika die Artbildung noch in vollem Gange ist (vgl. CLELAND 1950), sondern auch in Europa bilden sich noch fortgesetzt neue Formen aus, die sich größtenteils von den in Amerika vorkommenden weitgehend unterscheiden. Für DE VRIES war die Gattung *Oenothera* das wichtigste Objekt zur Demonstration seiner „Mutationstheorie“. Später hat vor allem RENNER (1937a, 1942, 1943, 1946, 1950, 1956) die spontane Neubildung von *Oenothera*-Formen und ihre Ausbreitung untersucht und in zahlreichen Arbeiten dargestellt.

In den Jahren nach dem Kriege zeigte sich, daß es auf der Gemarkung Altenheim in Mittelbaden außer den in den Floren aufgeführten *Oenotheren* noch weitere Formen gab, die mit den üblichen Bestimmungsbüchern nicht bestimmt werden konnten. Es erschien nun als eine lohnende Aufgabe, diese unbekannten Typen zu bestimmen, ihre Verbreitung festzustellen und nach Möglichkeit ihre Entstehung und Herkunft zu ermitteln. Dabei empfahl es sich, nicht nur einen eng begrenzten Raum, sondern ein größeres Gebiet gleichzeitig zu untersuchen, um einen möglichst guten Überblick zu erhalten. Nachstehende Arbeit schildert die Ergebnisse, die bei diesen Untersuchungen erzielt wurden.

**B. Material und Methode**

Zu der vorliegenden Arbeit wurden Wild-*Oenotheren* aus der Oberrheinischen Tiefebene, außerdem noch Pflanzen aus einigen Schwarzwaldtälern und vom Mittelrhein verwendet. Eingehender untersucht wurde nur das Gebiet von Basel flußabwärts bis Kehl; außerdem dehnten sich die Nachforschungen 1952 nordwärts bis Aschaffenburg, Frankfurt a. M. und Koblenz aus. Das Elsaß und die südliche Rheinpfalz mußten unberücksichtigt bleiben. Fast ausnahmslos wurden die angegebenen Strecken mit dem Fahrrad zurückgelegt, wodurch sich weitgehende Unabhängigkeit von Zeit und Gelände ermöglichen ließ. Das ganze Gebiet nördlich von Kehl wurde nur im Juli und August 1952 untersucht, die Fundorte zwischen Kehl und Basel dagegen konnten in den Jahren 1951—1956 mehr oder weniger häufig überprüft werden.

Von interessant erscheinenden Pflanzen wurden nach Möglichkeit sofort junge Knospen fixiert und auch Samen abgeerntet, außerdem in günstigen Fällen Photographien am natürlichen Standort aufgenommen. Aus den abgeernteten Wildsamen wurden im Versuchsgelände des Botanischen Instituts Pflanzen aufgezogen, die sowohl zu Kreuzungen dienten, als auch junge Knospen zur Bestimmung der Diakinesekonfiguration lieferten. Die Knospen

\* Gekürzte Fassung einer Dissertation.

wurden in Fixiergemisch nach CARNOY 3:1 fixiert und in den folgenden Monaten in Eisenkarmin angefärbt und zu Quetschpräparaten verarbeitet. Formen, die nach ihren floristischen Merkmalen und ihrer Diakineseconfiguration nicht einwandfrei einer schon bekannten Art angehörten, wurden mit *Oe. Hookeri* Freiburg und reziprok gekreuzt, um die ersten Anfänge einer Komplexanalyse vorzunehmen. Vollständige Komplexanalysen mit Hilfe zahlreicher Kreuzungen konnten nicht durchgeführt werden.

Die Festlegung der Fundorte am Rhein entlang ist mit Hilfe der dortigen Kilometer-einteilung leicht durchführbar. Soweit eine solche besteht, wurde an den Nebenflüssen entsprechend verfahren. An sonstigen Fundstellen beziehen sich die Angaben auf nahe gelegene Ortschaften oder markante Geländepunkte. Die Bezeichnung der einzelnen Typen wurde so vorgenommen, daß bei Formen, die vom Standardtyp nur wenig abweichen, eine Ortsbezeichnung dem botanischen Namen hinzugefügt wurde, wie z.B. „*Oe. Lamarckiana* Altenheim“ oder „*Oe. suaveolens* Kehl“. Bei Pflanzen dagegen, die offensichtlich keiner schon bekannten Art entsprechen, wurde nur der Ortsname gewählt, wie es CLELAND in zahlreichen Fällen durchführte, also z.B. „*Oe. Rimsingen*“, oder „*Oe. Goldscheuer*“.

## C. Empirische Ergebnisse

### I. Die einzelnen Arten

*Oenothera biennis* L. ist im untersuchten Gebiet häufiger als alle anderen Oenotheren zusammen. Im südlichen Teil der Rheinebene kommt sie vorwiegend an Bahnlinien, Dämmen, künstlich verbauten Flußufern, gesprengten Bunkern und auf Schutt vor, im nördlichen, weithin sandigen Teil außerdem auf Äckern, Feldrainen und in lichten Kiefernwäldern.

*Oe. biennis sulfurea* wurde überall einzeln oder in kleinen Gruppen zwischen gelbblühenden Pflanzen eingestreut gefunden, wobei ihre Häufigkeit schätzungsweise etwa 1—2<sup>0</sup>/<sub>00</sub> beträgt. *Oe. biennis cruciata* dagegen wurde nie gefunden.

*Oenothera suaveolens* ist in Südwestdeutschland, besonders am Rhein entlang, recht weit verbreitet, jedoch handelt es sich dabei um mehrere, untereinander nicht völlig gleiche Formen, von denen anscheinend keine einzige mit der Standardrasse von Fontainebleau noch mit den von RENNER (1942, 1950, 1956) und STUBBE (1953) beschriebenen Typen völlig übereinstimmt. Ihre Konfiguration sowie die Konfigurationen, die bei Kreuzungen mit *Oe. Hookeri* Freiburg entstehen, sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1

	Konfiguration	<i>albicans</i> · <sup>h</sup> <i>Hookeri</i>		<i>flavens</i> · <sup>h</sup> <i>Hookeri</i>	
		Konfiguration	Anzahl	Konfiguration	Anzahl
<i>Oe. suaveolens</i> Standard (aus Fontainebleau)	12, 2	014	—	4, 2, 2, 2, 2, 2	—
<i>Oe. suaveolens</i> Altenheim . . . . .	10, 2, 2	014	7	4, 4, 2, 2, 2	12
<i>Oe. suaveolens sulfurea</i> Steinsporen . . . . .	10, 2, 2	—	0	4, 4, 2, 2, 2	20
<i>Oe. suaveolens</i> Kehl . . . . .	12, 2	014	2	8, 2, 2, 2	19
<i>Oe. suaveolens</i> Offenburg . . . . .	12, 2	—	—	—	—
<i>Oe. suaveolens</i> Seeheim . . . . .	12, 2	014	30	6, 4, 2, 2	7
<i>Oe. suaveolens</i> St. Goar . . . . .	12, 2	014	3	8, 2, 2, 2	6
<i>Oe. Rimsingen</i> ( <i>gaudens</i> · <i>flavens</i> ) . . . . .	014	<i>gaudens</i> · <sup>h</sup> <i>Hookeri</i>	<i>flavens</i> · <sup>h</sup> <i>Hookeri</i>	12, 2   4, 4, 2, 2, 2	

Folgende Herkünfte wurden untersucht:

*Oe. suaveolens* Altenheim ist von Basel an rheinabwärts bis Kehl ziemlich häufig, kommt aber nur in der Nähe des Flusses vor. Ihre Blüten sind etwas größer als die von *Oe. suaveolens*



Standard, außerdem erscheinen die ganzen Pflanzen größer und kräftiger als jene. *Oe. suaveolens sulfurea* Steinsporen wird seit 1952 alljährlich in einigen Exemplaren beobachtet. Sie hat zwar die gleiche Konfiguration wie *Oe. suaveolens* Altenheim, nämlich 10,2,2, ist aber breitwüchsiger und niedriger als diese. Außerdem entstanden bei der Kreuzung mit *Oe. Hookeri* Freiburg nur 20 *flava*-Formen, aber keine einzige *albata*. Ferner unterscheidet sich diese *flava* von der aus *Oe. suaveolens* Altenheim durch wesentlich schmalere Blätter. *Oe. suaveolens* Kehl, die im Bereich des Rheinhafens in großen Mengen vorkommt, unterscheidet sich von *Oe. suaveolens* Altenheim floristisch kaum, hat aber die Konfiguration 12,2, und bei der Kreuzung mit *Oe. Hookeri* Freiburg entstehen *flava*-Formen mit 0 8 und 3 Bivalenten. Im Bereich des Offenburger Rangierbahnhofs kommt vereinzelt ebenfalls eine *Oe. suaveolens* mit der Konfiguration 12,2 vor, doch wurde sie bisher noch nicht mit *Oe. Hookeri* gekreuzt. Eine weitere Form mit breiterem Wuchs und dunklerem Laub als *Oe. suaveolens* Standard wurde 1952 südlich von Darmstadt massenhaft gefunden. Bei Kreuzung von Material aus Seeheim mit *Oe. Hookeri* entstanden *flava*-Formen mit der Konfiguration 6,4,2,2. Auffallend war, daß bei dieser Kreuzung 30 *albata*- nur 7 *flava*-Typen gegenüberstanden, während sonst immer die Zahl der *flava* stark überwiegt. Am Nothafen unterhalb St. Goar wurde 1952 eine *Oe. suaveolens* gesammelt, die ebenfalls der *Oe. suaveolens*-Standard sehr ähnlich war und die Konfiguration 12,2 hatte. Ihre *flava* dagegen bildete einen 8-er-Ring und 3 Bivalente, wie *Oe. suaveolens* Kehl.

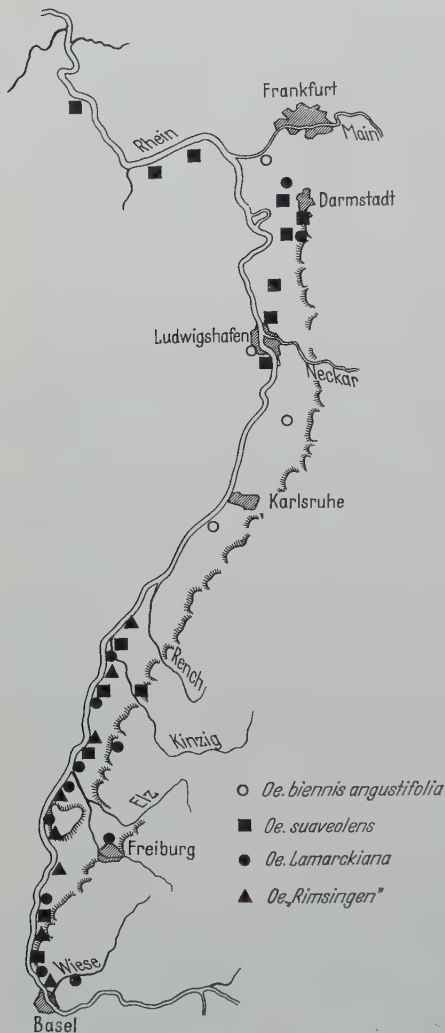


Abb. 1. Verteilung von 4 Oenotherenarten im Oberrheingebiet

Die vorstehenden Beschreibungen zeigen, daß die am Rhein vorkommende „*Oenothera suaveolens*“ keine völlig einheitliche Art ist, sondern eine ganze Anzahl von Lokalformen umfaßt. Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen von STUBBE (1953) überein, der *Oe. suaveolens*-Stämme aus Ungarn und von Friedrichshagen bei Berlin untersuchte und ebenfalls eine erhebliche Labilität des *flavens*-Komplexes feststellte, während außer bei dem Material von Grado in Venetien der Komplex *albicans* unverändert geblieben war.

*Oenothera Ludwigshafen*. Im nördlichen Teil der Rheinebene findet man ziemlich häufig eine Form, die sich von allen schon bekannten deutlich unterscheidet. 1952 wurden Knospen davon bei Neuburgweier, südwestlich von Karlsruhe, bei Malsch, südlich von Heidelberg, in Ludwigshafen und bei Rüsselsheim fixiert. Bei Aufzucht aus eingesammelten Samen wurde deutlich, daß sich die Formen von Neuburgweier und Rüsselsheim außer in einer gewissen Differenz

der Blütengröße in keiner Weise unterscheiden. In Ludwigshafen standen an der bei HEINE (1950/51) angegebenen Stelle am Luitpoldhafen viele Pflanzen von gleichem Aussehen und außerdem noch zahlreiche Exemplare dieser Form mit cruciaten Blüten. Auch deren Nachkommen im Garten unterschieden sich von *Oe. Neuburgweier* und *Oe. Rüsselsheim* nur durch ihre cruciate Blütenform. Die Kronblattlänge schwankt bei den einzelnen Herkunftstypen zwischen 16 und 20 mm, die Konfiguration war in allen Fällen 6,8. Vom Fundort Malsch wurden keine Samen geerntet. Außerdem wurden 1952 bei Altenheim am Rheinufer von einer Pflanze Knospen fixiert, die ebenfalls die Konfiguration 6,8 hatten. — Es kann kein Zweifel bestehen, daß es sich hier in allen Fällen um die Form handelt, die RENNER inzwischen (1956) als *Oe. biennis* L. *nova* var. *angustifolia* beschrieben hat. Eine floristisch ganz ähnliche Form, aber mit 014, kommt im Bereich des Offenburger Verschiebebahnhofes vereinzelt vor, wurde aber nicht näher untersucht.

*Oenothera chicaginensis*. Eine Wildform, die der *Oe. chicaginensis* der Freiburger Oenotheren-Sammlung sehr ähnlich ist, wurde 1951 von mir in Freiburg auf Trümmern in der Merianstraße erstmals beobachtet, doch wurden diese Fundorte 1953 beim Ausbaggern von Baugruben vernichtet. Inzwischen hatten sich jedoch schon neue Vorkommen in der näheren Umgebung gebildet. Alljährlich dringt diese Art nach allen Richtungen weiter auf noch vorhandene Trümmergrundstücke vor, während andererseits fortgesetzt schon bestehende Vorkommen zerstört werden. Am 1. 10. 55 war die Gesamtzahl aller in Freiburg stehenden *Oe. chicaginensis* schätzungsweise 3000, die Rosetten nicht mitgerechnet, während 1956 ihre Zahl wieder geringer war.

Nachforschungen auf den Schuttplätzen vor der Stadt führten 1955 erstmals zum Erfolg: An 4 Stellen nördlich, südlich und südwestlich von Freiburg konnte *Oe. chicaginensis* in verschiedener Zahl festgestellt werden, und 1956 hatte sich hier die Zahl der Pflanzen noch erhöht. Das größte Vorkommen bestand am 28. 8. 56 aus 248 blühenden Exemplaren. Die Herkunft und das erste Auftreten von *Oe. chicaginensis* in Freiburg haben sich bisher nicht feststellen lassen. Anzahl und Verteilung der Pflanzen am ersten Fundort im Sommer 1951 deuten darauf hin, daß die erste Einschleppung schon wenigstens 2 Jahre zurücklag, andererseits erwähnt BEYER (1947) in ihrer Arbeit über die Freiburger Trümmerflora an dieser Stelle überhaupt keine Oenotheren. Daß es sich um verschleppte Samen aus dem Botanischen Garten handelt, ist sehr unwahrscheinlich, weil beide Formen bei gleichzeitiger Aufzucht nebeneinander floristisch sich nicht völlig gleichen. Hinzu kommt der konfigurative Unterschied: Die Wildform aus der Merianstraße hat in der Diakinese 014, die Standardform im Botanischen Garten aber 12,2. Die Kreuzung der Wildform mit *Oe. Hookeri* Freiburg ergab eine uniforme Nachkommenschaft mit der Konfiguration 4,4,2,2,2, während die entsprechende Kreuzung der Standardform nur einen Viererring ergibt, wie JAPHA (1939) zeigt. Der *excellens*-Komplex der Wildform hat demnach also eine Translokation mehr als der *excellens*-Komplex der Standardform. Die reziproke Kreuzung *Oe. (Hookeri* Freiburg  $\times$  *chicaginensis* Merianstraße) reifte im Herbst nicht mehr aus und konnte deshalb nicht aufgezogen und untersucht werden.

RENNER (1950, 1956) nennt *Oe. chicaginensis* für die Gegend von Kolmar, doch stand diese Form als Vergleichsmaterial nicht zur Verfügung. Dagegen wurden *Oe. chicaginensis* aus Samen aufgezogen, den Herr Professor OEHLKERS am Lago Maggiore gesammelt hatte. Die Pflanzen aus dieser Aufzucht zeigten ebenfalls 014 in der Diakinese, während sie floristisch betrachtet eine Zwischenstellung zwischen der Standardform und *Oe. chicaginensis* Merianstraße einnahmen. Eine Ableitung des Vorkommens auf den Trümmern der Freiburger Nordstadt von der Standardform des Botanischen Gartens erscheint aus den oben genannten Gründen ausgeschlossen, möglicherweise liegt hier aber eine Einschleppung von Samen direkt aus Amerika vor. Denn *Oe. chicaginensis* ist die einzige Oenotherenart, die bis jetzt

sowohl in Amerika als auch bei uns gefunden wurde. Daß es in Amerika ebenfalls *Oe. chicaginensis* mit 014 gibt, ist schon daraus zu schließen, daß nach RENNER (1950) die von DE VRIES kultivierte Rasse 014 hatte.

Das Auftreten außerhalb der Stadt beruht den ganzen örtlichen Verhältnissen nach zweifellos auf Verschleppung mit dem Trümmerschutt, auf dem sie wächst. Doch auch eine weitere Ausbreitung durch fließendes Wasser ist durchaus möglich, denn mitten durch die Standorte in der Stadt fließt der Gewerbebach, der unterhalb von Freiburg wieder in die Dreisam zurückmündet. Bisher stand *Oe. chicaginensis* Merianstraße noch nie nahe bei anderen *Oenotheren*, deshalb wurden auch noch keine Bastarde gefunden. Auf die Dauer wird es aber sicherlich zu einem Eindringen der *Oe. chicaginensis* in Bestände von anderen *Oenotheren* und damit sehr wahrscheinlich auch zu Bastardbildungen kommen. Gerade hierauf ist in Zukunft zu achten.

*Oenothera Lamarckiana* kommt in der Rheinebene in zwei floristisch unterschiedlichen Formen vor, die auch in ihren Verbreitungsgebieten weit voneinander getrennt sind: Die eine Form wuchs 1952 bei Jugenheim an der Bergstraße in großer Menge. Floristisch ist sie der *Oe. Lamarckiana* RENNER am ähnlichsten und hat wie diese die Konfiguration 12,2. Es handelt sich hier um die bei HEINE (1950/51) genannte „*Oe. grandiflora*“. Wieweit dieses Vorkommen mit den bei RENNER (1950) angegebenen Funden von *Oe. Lamarckiana* „bei Frankfurt a. M.“ zusammenhängt, ist nicht bekannt.

Da *Oe. biennis* überall zwischen der *Oe. Lamarckiana* wuchs, waren Bastarde in großer Zahl vorhanden. Außerdem überschneidet sich der Bereich der *Oe. Lamarckiana* gerade eben mit dem der *Oe. suaveolens* von Seeheim, doch wurden 1952 noch keine Bastarde dieser beiden Arten festgestellt. Zwei weitere *Oe. Lamarckiana* wuchsen an der Autobahn nordwestlich von Darmstadt, andere Funde waren nicht zu verzeichnen. Eine andere Form von *Oe. Lamarckiana* kommt zwischen Basel und Kehl am Rhein entlang vor. Am häufigsten ist sie in der Nähe von Basel, rheinabwärts wird sie allmählich seltener, und nördlich von Kehl wurde sie bisher noch nicht gefunden. Ein weiteres Vorkommen besteht in der Vorbergzone des Schwarzwaldes bei Mahlberg, südlich von Lahr, wo 1955 etwa 700—800 Pflanzen auf Lößterrassen wuchsen.

Diese oberrheinische Form, die nach dem ersten Fundort *Oe. Lamarckiana* Altenheim genannt sei, unterscheidet sich recht deutlich sowohl von *Oe. Lamarckiana* DE VRIES als auch von *Oe. Lamarckiana* RENNER. *Oe. Lamarckiana* Altenheim wird größer und kräftiger als *Oe. Lamarckiana* RENNER, und ihre Kronblätlänge kann 60 mm erreichen. Außerdem ist die Rotfärbung der Knospen stärker als bei *Oe. Lamarckiana* RENNER. Bei Aufzucht nebeneinander unterschied sich *Oe. Lamarckiana* Altenheim durch Größe, Blütengröße und Rotfärbung der Knospen von *Oe. Lamarckiana* RENNER weit stärker als diese von *Oe. Lamarckiana* DE VRIES. Man kann also in bezug auf Blütengröße und Rotfärbung der Knospen von einer fortlaufenden Reihe *Oe. Lamarckiana* DE VRIES, *Oe. Lamarckiana* RENNER, *Oe. Lamarckiana* Altenheim sprechen. Die Rosetten der *Oe. Lamarckiana* Altenheim erreichen auf günstigem Boden im Spätherbst häufig  $\frac{3}{4}$  m im Durchmesser, und am 1. 11. 53 wurden sogar Rosettenblätter von 46 cm Länge gemessen.

Ganz eindeutig läßt sich *Oe. Lamarckiana* Altenheim von *Oe. Lamarckiana* DE VRIES unterscheiden, wenn Kreuzungen mit *Oe. Hookeri* Freiburg hergestellt werden: Die *laeta* aus der Kreuzung *Oe. (Lamarckiana* Altenheim  $\times$  *Hookeri* Freiburg) waren normal, jedoch auffallend kräftig und hatten die zu erwartende Konfiguration 10,2,2. Auch die *velutina* hatten die erwartete Konfiguration von einem Viererring und 5 Bivalenten. Überraschenderweise waren jedoch sämtliche *velutina*-Pflanzen von Anfang an grün, sogar dunkler grün als die zugehörige *laeta*, ganz im Gegensatz zu den Befunden RENNERS. Nicht die geringste Spur von Ausbleichen der Blätter war zu sehen. Nach dem Auspflanzen ins Versuchsgelände wuchsen sie zu verhältnismäßig niedrigen, aber sehr breiten, reichblütigen Pflanzen heran, deren Seitensprosse aus den Rosetten fast so groß wie der Hauptsproß wurden. Ihr Laub war auffallend dunkelgrün, die Blüten erreichten die Größe derer von *Oe. Lamarckiana* RENNER, und ihre Knospen waren besonders stark rot gefärbt. Aus einer Wiederholung der Kreuzung wuchsen im folgenden Jahre 13 *laeta* und 49 völlig grüne *velutina* heran, und 1955



aus einer weiteren Kreuzung nochmals 19 grüne *velutina*-Pflanzen. Drei verschiedene, voneinander unabhängige Kreuzungen hatten also das gleiche Ergebnis, das somit reproduzierbar war. Zur Kontrolle aufgezogene Pflanzen aus der Kreuzung *Oe. (Lamarckiana* DE VRIES  $\times$  *Hookeri* Freiburg) dagegen lieferten nur blasse *velutina* neben normalen *laeta*.

Aus der Kreuzung *Oe. ((Lamarckiana* Altenheim  $\times$  *Hookeri* Freiburg) *laeta*  $\times$  *Hookeri*) entstanden normale *laeta* und große, kräftige, völlig grüne *Hookeri*, während aus der Selbstung der gleichen *laeta* sogar „Über-*Hookeri*“ heranwuchsen, die fast die  $1\frac{1}{2}$ -fache Größe der *Oe. Hookeri* Freiburg erreichten, aufrechteren Wuchs zeigten und sie auch in der Blütengröße erheblich übertrafen. Aus der Kreuzung der oben genannten *laeta* mit *Oe. suaveolens sulfurea* entstanden vier relativ schwache *Oe. gaudens*  $\cdot$  *flavens* mit nur 28–30 mm langen Kronblättern und 12 viel größere und kräftigere *Oe.* <sup>h</sup>*Hookeri*  $\cdot$  *flavens*. Die entsprechenden Kreuzungen mit der *Oe. Lamarckiana* aus Jugenheim wurden nicht ausgeführt, weil 1952 noch keine reifen Samen vorhanden waren. Auch die *Oe. Lamarckiana* von Mahlberg konnte nicht auf diese Weise geprüft werden, da sie erst 1955 aufgefunden wurde.

Das Verhalten blasser, kaum lebensfähiger *velutina*-Pflanzen in den Kreuzungen von *Oe. Lamarckiana* DE VRIES oder *Oe. Lamarckiana* RENNER mit *Oe. Hookeri* interpretiert RENNER (1924, 1936) folgendermaßen: Der

*velans*-Komplex der beiden oben genannten Formen besitzt ein Gen, das beim Zusammen treffen mit dem Plastom von *Oe. Lamarckiana* in der Kombination *velans*  $\cdot$  <sup>h</sup>*Hookeri* eine mangelhafte Ergrünungsfähigkeit der Plastiden hervorbringt. Das gleiche gilt für den Komplex <sup>h</sup>*Hookeri* aus *Oe. Hookeri*, der dem *velans*-Komplex recht ähnlich ist. Aus den oben angegebenen Kreuzungsergebnissen geht nun eindeutig hervor, daß das Plastom von *Oe. Lamarckiana* Altenheim einen anderen genetischen Charakter gegenüber dem der beiden Standardformen besitzen muß. Aus der Kreuzung *Oe. (Lamarckiana* Altenheim  $\times$  *Hookeri* Freiburg) aber ist das jedoch nicht ersichtlich; aus der Rückkreuzung der *laeta* aus der gleichen Kreuzung mit *Oe. Hookeri* hingegen mit Sicherheit. <sup>h</sup>*Hookeri*  $\cdot$  <sup>h</sup>*Hookeri* in Verbindung mit dem *Oe. Lamarckiana*-Plastom aus den beiden Standardformen gibt stets blasse, kaum lebensfähige Pflanzen. Die Tatsache, daß bei der gleichen Rückkreuzung mit *Oe. Hookeri* in Verbindung mit dem Plastom von *Oe. Lamarckiana* Altenheim nicht nur eine normale, grüne *Oe. Hookeri*, sondern sogar Pflanzen mit durchaus supranormalem Wachstum entstehen, zeigt klar, daß das Plastom der *Oe. Lamarckiana* Altenheim ein anderes sein muß als das der Standardformen.



Abb. 2. Habitus von *Oenothera* „Rimsingen“

Um zu prüfen, ob die *Oe. Lamarckiana* Altenheim und die *Oe. Lamarckiana* DE VRIES die gleichen zygotischen Letalfaktoren besitzen, wurden die Kreuzungen *Oe. (Lamarckiana* DE VRIES  $\times$  *Lamarckiana* Altenheim) und reziprok aufgezogen. In keiner der Nachkommen-schaften zeigten sich homozygotische Formen. Die Letalfaktoren sind also dieselben.

Auffallend war bei diesen Kreuzungen, daß in beiden Fällen je etwa die Hälfte der Pflanzen eine wesentlich stärkere Rotfärbung der Knospen zeigte als die übrigen. Außerdem gab es noch einige Pflanzen, die in der Färbung der Knospen Zwischenstellungen einnahmen, so daß eine genaue Auszählung der einzelnen Typen nicht möglich war. Starke Rotfärbung deutet darauf hin, daß die jeweilige Pflanze den Komplex *velans* aus der *Oe. Lamarckiana* Altenheim enthält. In der Färbung der Haarbasen zeigt sich dagegen kein Unterschied. Bastarde dieser *Oe. Lamarckiana* mit *Oe. biennis* wurden häufig beobachtet, besonders an der Bahnlinie Freiburg-Müllheim ist die Kombination *velans* · *rubens* (= *fallax*) zahlreich zu finden. Eine Pflanze mit der Komplexkombination *albicans* · *gaudens* wurde 1952 bei Burkheim am Rheinufer gefunden und in den folgenden Jahren im Garten aufgezogen und mit *Oe. Hookeri* Freiburg gekreuzt. Dabei entstanden neben sehr großen *laeta*-Formen *albata*-Typen, die anfangs gelbscheckig waren, sich aber ziemlich schnell erholten und zur Blüte kamen.

*Oenothera Rimsingen*. Am 13. 7. 51 fiel uns bei Oberrimsingen am Rheinufer zum erstenmal eine Form auf, die später dann noch oftmals gefunden wurde. Sie ist besonders in der Gegend von Weil a. Rh., Märkt und Istein verbreitet und nimmt nach Norden hin allmählich ab, ähnlich wie die *Oe. Lamarckiana* Altenheim. Der nördlichste Fundort war Kilometer 307,585 bei Freistett, unterhalb von Kehl. Irgendwo weiter entfernt vom Rhein war sie niemals zu finden.

Im Wuchs ist diese Form *Oe. Rimsingen* der *Oe. Lamarckiana* Altenheim recht ähnlich, nur ist sie im Freiland noch breitwüchsiger. Als Beispiel sei hier ein besonders üppiges Exemplar genannt, das 1954 kaum 1,20 m hoch, aber 2,50 m breit war, die Wurzel hatte 6,8 cm Durchmesser. Ihre Verzweigungen waren in 1 m Tiefe noch über bleistiftstark. Die stark verzweigten Sprosse dieser Pflanze hatten bis zum 31. 10. 54 fast 2500 Blüten hervorgebracht, und 2082 Samenkapseln waren bis zu diesem Tage ausgereift. Im Hochsommer können solche Pflanzen über 60 Blüten am gleichen Abend öffnen. Das Hauptunterscheidungsmerkmal gegenüber *Oe. Lamarckiana* ist das Fehlen der Rotfärbung an Haarbasen und Knospen. Die Knospen sind zunächst grün, ihre Zipfel sind auffallend dünn und lang. Später werden die Knospen immer gelber, besonders am Tage vor dem Aufblühen. In einigen Fällen wurde eine ganz schwache Rotstreifung an den ältesten Knospen beobachtet. Die Blüten sind so groß wie die der *Oe. Lamarckiana* RENNER und können über 45 mm Kronblattlänge erreichen, der Griffel ist sehr lang und die Narbe steht weit über den Antheren. Die Samen sind heller gefärbt und wesentlich größer als bei *Oe. Lamarckiana*. Die Rosetten sind fast ebenso groß wie bei *Oe. Lamarckiana* Altenheim, die Blätter stark wellig, aber meist etwas heller grün gefärbt als bei *Oe. Lamarckiana*. Nicht selten sind sowohl in den Rosettenblättern als auch in Stengelblättern gelblich-grüne Bezirke zu sehen, die in den Spreiten völlig regellos verteilt sind. Meist nimmt diese Erscheinung in den Stengelblättern von unten nach oben ab. Die Konfiguration der *Oe. Rimsingen* ist ein Ring von 14.

Bei Kreuzungen mit *Oe. Hookeri* Freiburg entstanden normale *laeta* mit der Konfiguration 10,2,2 und *flava* mit 4,4,2,2,2. Diese *flava* zeigten aber genau die gleiche Ausbleichung der Blätter wie die *velutina* aus *Oe. (Lamarckiana* DE VRIES  $\times$  *Hookeri*), und selbst kurz vor dem Auspflanzen ins Freiland sind die Rosetten der blassen *flava*- und *velutina*-Pflanzen noch nicht voneinander zu unterscheiden. Erst später erholten sie sich mehr oder weniger gut und kamen teilweise zur Blüte. Der Prozentsatz der Ausfälle ist recht hoch, wenn auf das Auspflanzen sonniges Wetter folgt.

Noch schwächer waren die *Oe. Hookeri*-Pflanzen, die aus der Selbstung *Oe. (Rimsingen*  $\times$  *Hookeri*) *laeta* entstanden. Von 29 auspikierten *Oe.* <sup>h</sup>*Hookeri* · <sup>h</sup>*Hookeri* gingen 12 Pflanzen ein, von den restlichen 17 kamen nur 2 zur Blüte. Die aufgezogenen *laeta*-Pflanzen dagegen waren normal. Auch aus *Oe. ((Rimsingen*  $\times$  *Hookeri*) *laeta*  $\times$  *Hookeri*) entstanden 5 normale

*laeta*- und 18 *Hookeri*-Pflanzen, von denen am 5. 8. 54 nur noch 6 ganz besonders kümmerliche Pflänzchen übrig waren, wovon ein einziges zur Blüte kam. Es handelt sich also hier um die gleichen Erscheinungen, wie sie für die entsprechenden Kreuzungen der *Oe. Lamarckiana* DE VRIES beschrieben sind.

Die floristische Ähnlichkeit, das gleiche Verbreitungsgebiet und die gleiche Konfiguration der *laeta*- und *flava*-Typen ließen zunächst vermuten, daß es sich bei *Oe. Rimsingen* um die Kombination der beiden Komplexe *gaudens* und *flavens* aus *Oe. Lamarckiana* Altenheim und *Oe. suaveolens* Altenheim handelt. Mehrere Gründe sprechen jedoch dagegen. 1. Die aus einer Wildabsaat von *Oe. suaveolens* Altenheim erhaltenen *flavens* · *gaudens*-Pflanzen hatten 12,2, *Oe. Rimsingen* dagegen 014. 2. Ebenso verhält sich *Oe. flavens* · *gaudens* aus der Kreuzung *Oe. (suaveolens* Altenheim × *Lamarckiana* Altenheim) und entsprechend auch die reziproke *Oe. gaudens* · *flavens*. 3. Die *flava*-Pflanzen aus *Oe. (Rimsingen* × *Hookeri*) waren ausnahmslos blaß. Im Gegensatz dazu sind die *flava*-Pflanzen aus den Kreuzungen *Oe. (Lamarckiana* Altenheim × *suaveolens* Altenheim) *gaudens* · *flavens* sowie reziprok alle grün. Genau so verhielten sich auch die *flava*-Typen aus der spontanen *flavens* · *gaudens* der Wildabsaat von *Oe. suaveolens* Altenheim bei Kreuzung mit *Oe. Hookeri*. 4. Alle *gaudens* · *flavens*- und *flavens* · *gaudens*-Pflanzen, die von *Oe. suaveolens* Altenheim stammten, waren schwächer und hatten wesentlich kleinere Blüten, wenn sie auch in ihren sonstigen Merkmalen der *Oe. Rimsingen* sehr ähnlich waren.

Aus diesen Gründen ist es also sehr unwahrscheinlich, daß *Oe. Rimsingen* durch spontane Bastardierung aus *Oe. Lamarckiana* Altenheim und *Oe. suaveolens* Altenheim entstanden ist. Jedoch ist zu erwarten, daß diese Form in absehbarer Zeit neben *Oe. Rimsingen* vorkommt, wenn sie auch bis jetzt noch nicht im Gelände festgestellt wurde.

Um festzustellen, ob *Oe. Rimsingen* im *gaudens*-Komplex den gleichen Letalfaktor hat wie die vorhandenen *Oe. Lamarckiana*-Formen, wurde sie mit *Oe. Lamarckiana* DE VRIES, *Oe. Lamarckiana* RENNER und *Oe. Lamarckiana* Altenheim in beiden Richtungen gekreuzt. Bei den Aufzuchten zeigte sich keine einzige Homozygote, d. h. der *gaudens*-Komplex aus *Oe. Rimsingen* gibt in Kombination mit den *gaudens*-Komplexen der drei genannten *Lamarckiana*-Formen keine lebensfähigen Nachkommen. Dagegen erschienen die drei anderen zu erwartenden Kombinationen *gaudens* · *flavens*, *gaudens* · *velans* und *velans* · *flavens*. *Gaudens* · *flavens* und die reziprok entstandene *flavens* · *gaudens*-Form glichen der *Oe. Rimsingen* weit mehr als die drei entsprechenden Formen mit dem *flavens*-Komplex aus *Oe. suaveolens* Altenheim. Ob der *gaudens*-Komplex aus *Oe. Rimsingen* dem *gaudens*-Komplex aus *Oe. Lamarckiana* Altenheim völlig gleicht, steht noch nicht fest.

Die Herkunft der Form *Oe. Rimsingen* ist somit also noch ungeklärt. Eine Entstehung durch Bastardierung aus *Oe. Lamarckiana* und einem anderen *suaveolens*-Stamm in der Gegend von Basel ist möglich, ebenso eine Einschleppung durch Schiff oder Bahn, am wahrscheinlichsten aber eine Einwanderung durch die burgundische Pforte in das Gebiet von Basel und von dort aus eine Ausbreitung flußabwärts durch das Hochwasser des Rheins.

*Oenothera Goldscheuer*. Eine ziemlich kleinblütige *Oenothera*, die sich von allen anderen scharf unterscheidet, ist am Oberrhein zwischen Basel und Kehl und am Mittelrhein zwischen Rüdesheim und Koblenz in der Nähe des Stromes verbreitet. Bei Aufzucht im Garten unterschied sich die oberrheinische Form der *Oe. Goldscheuer* vom Fundort Altenheim von der mittelhheinischen aus St. Goar überhaupt nur durch eine geringe Differenz der Griffellänge. Wahrscheinlich sind die Vorkommen am Mittelrhein aus angeschwemmten Samen vom Oberrhein entstanden. Daß 1952 diese Form zwischen Kehl und Rüdesheim nirgends festgestellt wurde, besagt noch nicht, daß sie hier nicht stellenweise ebenfalls wächst.



Die vorliegende Form hat kräftige, ziemlich dicke Stengel, die mehr oder weniger stark gerieft sind. Meistens bilden sich aus der Rosette mehrere Seitensprosse, die fast die Größe des Hauptsprosses erreichen. Im Freiland wird die Pflanze kaum 1 m hoch, aber recht breit. Die Haarbasen der Stengel sind rot gefärbt. Die Blätter sind groß, dunkelgrün, ziemlich breit und mehr oder weniger stark wellig, die Adern rötlich, der Rand schwach gezähnt. Vor dem Schießen sind die Rosetten denen der *Oe. Lamarckiana* ähnlich, aber nicht ganz so groß. Der Sproßgipfel ist eben und sehr dicht gedrängt, die Brakteen sind so lang wie die jungen Knospen. Diese sind kurz, dick und sehr stark rot gefärbt, oft bleibt nur ein ganz schmaler Mittelstreifen des Kelchblattes grün. Die Kelchblattzipfel der Knospen sind kürzer als bei *Oe. suaveolens* und spreizen auseinander. Die Blüten sind flach, schüsselförmig, ihre Kronblätter 18 mm lang und so breit, daß sie sich gegenseitig teilweise überdecken. Bei der Form von St. Goar liegt die Narbe in der Knospe zwischen den Antheren, bei der von Altenheim unterhalb der Anthren. Die Samenkapseln sind lang, konisch und tragen kleine rote Tupfen. Die Konfiguration war bei beiden Herkünften 12,2.

1954 wurden aus der Kreuzung *Oe. (Goldscheuer × Hookeri* Freiburg) 36 Pflänzchen pikiert, von denen 6 eingingen und 30 zur Blüte kamen. Diese Bastarde waren alle untereinander gleich, sie wurden wesentlich schlanker und höher als die Mutterpflanze, auch waren die Knospen nicht so stark rot gefärbt. Die Blüten erreichten fast die Größe derer von *Oe. biennis*. Nur in der Färbung der Blattadern war die Aufzucht nicht einheitlich: 10 Pflanzen waren schwach rotnervig, 20 hatten farblose Blattnerven.

Die aus der reziproken Kreuzung entstandenen Pflanzen glichen den vorigen völlig. Von 32 pikierten Sämlingen kamen alle zur Blüte. Nur in der Verteilung der Blattaderfärbung bestand ein anderes Zahlenverhältnis: auf 15 Rotnervige kamen 17 mit farblosen Blattnerven. Sowohl die Rotnervigen als auch die farblosen hatten in der Diakinese einen Viererring und 5 Bivalente, ebenso wie in der reziproken Kreuzung.

Um welchen Komplex es sich dabei handelt, läßt sich schwer entscheiden, deshalb sei er einstweilen als  $\beta$ -*Goldscheuer* bezeichnet. Gegen  $^h$ *Hookeri* hat er nur 1 Translokation, wie die 5 Bivalente zeigen. Von den bisher in Mitteleuropa bekannten Komplexen kämen unter diesem Gesichtspunkt nur *flavens* und *velans* in Frage. Es standen aber zur gleichen Zeit die *flava*-Formen aus den verschiedenen *suaveolens*-Stämmen und die *velutina* aus *Oe. (Lamarckiana* Altenheim  $\times$  *Hookeri*) auf dem gleichen Versuchsfeld. Sie unterscheiden sich alle in sämtlichen floristisch bedeutungsvollen Merkmalen derart stark von den beiden beschriebenen Bastarden, daß es sich demnach nicht um einen Abkömmling dieser beiden Komplexe handeln kann. Der Komplex *rigens*, der ebenfalls in Frage zu ziehen wäre, wurde bisher von uns in Wildformen nicht gefunden, deshalb stand auch die Komplexkombination *rigens*  $\cdot$   $^h$ *Hookeri* als Vergleich nicht zur Verfügung. Bei RENNER (1950, 1956) ist der Komplex *rigens* für die Oberrheinebene schon genannt, doch hat er 2 Translokationen gegenüber  $^h$ *Hookeri*,  $\beta$ -*Goldscheuer* indessen nur eine. Es käme also allenfalls ein *rigens*-Komplex mit nur einer Translokation gegen  $^h$ *Hookeri* in Frage, der entsprechend den abgeänderten *flavens*-Komplexen neben dem normalen *rigens* vorkäme.

Völlig unbekannt bleibt der Komplex  $\alpha$ -*Goldscheuer*. Von den 36 pikierten Keimlingen der Kreuzung *Oe. (Goldscheuer × Hookeri)* kamen 30, wie oben erwähnt, zur Blüte, während 5 bald eingingen. Das 6. Pflänzchen wuchs zunächst zu einer kleinen Rosette mit auffallend schmalen Blättern heran, ging aber noch vor dem Auspflanzen ein. Es ist zu vermuten, daß es sich hier um eine Pflanze mit der Zusammenstellung des gesuchten  $\alpha$ -Komplexes mit  $^h$ *Hookeri* handelte. Das gleiche war vielleicht ebenfalls bei den 5 kurz nach dem Pikieren eingegangenen Setzlingen der Fall. Denn bei der reziproken Kreuzung *Oe. (Hookeri × Goldscheuer)* kamen alle 32 pikierten Keimlinge zur Blüte.

Folgendes läßt sich über die beiden Komplexe aussagen, die *Oe. Goldscheuer* bilden: 1. Der eine Komplex scheint nur einzellenaktiv zu sein; er wird  $\alpha$ -*Gold-*

*scheuer* genannt. Warum er in Verbindung mit *<sup>h</sup>Hookeri* keine lebensfähigen Pflanzen hervorbringt, ist vorläufig nicht zu verstehen. Kombinationen mit anderen bekannten Komplexen sind von uns bisher noch nicht aufgezogen worden. 2. Der Komplex  $\alpha$ -Goldscheuer muß gegenüber *<sup>h</sup>Hookeri* zahlreiche Translokationen haben, denn  $\beta$ -Goldscheuer  $\cdot$  *<sup>h</sup>Hookeri* bildet nur einen Viererring, hat also nur eine Translokation, während  $\alpha + \beta$ -Goldscheuer einen Zwölferring und ein Bivalent bilden. 3. Der Komplex  $\alpha$ -Goldscheuer muß die Anlage für Rotstreifung der Knospen enthalten, denn  $\alpha + \beta$ -Goldscheuer hat weit stärkere Rotstreifung der Knospen als  $\beta$ -Goldscheuer  $\cdot$  *<sup>h</sup>Hookeri*. 4. Die Wellung der Blätter wird wahrscheinlich durch den Komplex  $\alpha$  verursacht, denn  $\beta$ -Goldscheuer  $\cdot$  *<sup>h</sup>Hookeri* zeigt keinerlei Wellung. 5. Der Komplex  $\beta$ -Goldscheuer ist sowohl eizellenaktiv als auch pollenaktiv und bildet in Verbindung mit *<sup>h</sup>Hookeri* kräftige Pflanzen. 6.  $\beta$ -Goldscheuer muß kleine Blüten vererben, denn  $\beta$ -Goldscheuer  $\cdot$  *<sup>h</sup>Hookeri* hat nur 20 mm lange Kronblätter, obwohl *<sup>h</sup>Hookeri* große Blüten bedingt. Außerdem scheint  $\alpha$ -Goldscheuer ebenfalls die Anlage für nur kleine bis mittelgroße Blüten zu enthalten, denn  $\alpha + \beta$ -Goldscheuer hat kleinere Blüten als  $\beta$ -Goldscheuer  $\cdot$  *<sup>h</sup>Hookeri*.

*Oenothera parviflora* L. ist schon seit über 100 Jahren aus der Gegend von Freiburg bekannt und hat auch heute noch den Schwerpunkt ihrer Verbreitung in der Freiburger Bucht. In großer Häufigkeit kommt sie an den Ufern der kanalisierten Flüsse Dreisam und Elz bis zu ihrer Mündung in den Rhein vor, verstreut von da an rheinabwärts.

Oberhalb der Mündung des Elz-Dreisamkanals wurde sie nur bei Burkheim am Rheinufer gefunden. RENNER (1956) nennt *Oe. parviflora* außerdem noch für die Gegend von Kolmar. Auf den Trümmern von Freiburg war sie bis 1950 sehr häufig, besonders um den Karlsplatz. 1947 beschreibt BEYER einen kleinen, dicht geschlossenen Bestand von *Oe. parviflora* an der Südseite des Karlsplatzes, von wo aus sie sich anscheinend in den folgenden Jahren in die Trümmer der nächsten Umgebung ausbreitete. Inzwischen hat der fortschreitende Wiederaufbau sie stark zurückgedrängt. Im Garten läßt sich *Oe. parviflora* nur schwer



Abb. 3. Verteilung von 3 Oenotherenarten im Ober- und Mittelrheingebiet

einjährig zur Blüte bringen, trotz der üblichen Kälteschockbehandlung schießen die Pflanzen oft nicht. Selbst im Frühjahr ausgegrabene Rosetten von Wildstandorten kamen nach der Verpflanzung in den Garten nur teilweise zur Blüte.

Die Konfiguration der *Oe. parviflora* vom Dreisamdamm bei Hugstetten war 014, ebenso bei Material vom Rheinufer bei Altenheim. Auch floristisch stimmen beide Herkünfte in allen Merkmalen mit *Oe. parviflora* L. überein.

*Oenothera Kehl*. Eine Form, die keiner der schon beschriebenen völlig gleicht, kam 1952 in Massen im Kehler Hafengelände vor. Es waren schätzungsweise 20000—30000 Pflanzen. Durch Aufräumungsarbeiten wurden die Standorte inzwischen zumeist zerstört, so daß 1955 nur noch etwa 3000—5000 Pflanzen übrig waren. Außerhalb von Kehl kommt sie noch an verschiedenen Orten in kleineren Beständen vor: am Dreisamdamm unterhalb von Freiburg, im Renchtal und bei Appenweier, an mehreren Stellen der Gemarkung Altenheim und in Ludwigshafen am Rheinufer.

Ob *Oe. Kehl* von *Oe. parviflora*, von *Oe. syrticola*, die nach RENNER (1950, 1956) bei Kolmar vorkommt, oder von einer sonstigen Art abzuleiten ist, könnte erst nach Kreuzungsanalysen sicher entschieden werden. Floristisch zeigt *Oe. Kehl* viel Ähnlichkeit mit *Oe. parviflora*, vor allem im Wuchs. Das Hauptunterscheidungsmerkmal ist die Blütengröße, nämlich 17 mm Kronblattlänge gegenüber nur 11 mm bei *Oe. parviflora*. Zwischenformen wurden nie gefunden. *Oe. Kehl* hat aufrechte, dicke und geriefte Stengel mit ungefärbten Haarbasen, der Gipfel nickt nur schwach. Oft entspringen unmittelbar unterhalb der Infloreszenz mehrere Seitenzweige aus dem Hauptsproß, ebenso sind Seitensprosse aus der Rosette in der Regel ausgebildet. Die Blätter sind mittelgroß, dunkelgrün, leicht gezähnt, hellnervig und stehen am Sproß auffallend dicht übereinander. Der Sproßgipfel ist sehr flach und breit, die kleinen kurzen plumpen Knospen stehen in einer Fläche dicht gedrängt. Ihre rötlichen kurzen Zipfeln spreizen stark auseinander. Die Blüten sind flach ausgebreitet, die Kronblätter 17 mm lang, die Narbe sitzt zwischen den Antheren. Die kurzen dicken konischen Samenkapseln sind bis zur Reife dunkelgrün und sitzen dichtgedrängt am Sproß.

Die Konfiguration der *Oe. Kehl* ist 014, also sowohl der *Oe. parviflora* als auch der *Oe. syrticola* gleich. Untersucht wurden abgeerntete Knospen aus Kehl und Altenheim sowie von Pflanzen, die als Rosetten bei Altenheim ausgegraben und in Freiburg aufgezogen wurden. Diese gleichen Pflanzen dienten auch zu Kreuzungen mit *Oe. Hookeri* Freiburg. *Oe. (Kehl · Hookeri)* reifte nicht mehr und konnte so nicht untersucht werden, dagegen gelang die reziproke Kreuzung *Oe. (Hookeri × Kehl)*. Aus ihr entstand nur eine uniforme Nachkommenschaft mit der Konfiguration 10,2,2, also war der andere Komplex polleninaktiv.

Die hier vorgefundene Konfiguration 10,2,2 dürfte sich nicht ergeben, wenn der unveränderte Komplex *subcurvans* aus *Oe. parviflora* mit <sup>h</sup>*Hookeri* vereinigt wäre, denn nach den bei RENNER (1950) angegebenen Formeln müßte der Komplex *subcurvans* in der Verbindung mit <sup>h</sup>*Hookeri* 10,4 ergeben. Ganz unwahrscheinlich ist es, daß ein abgeänderter Komplex *curvans* aus *Oe. syrticola* in *Oe. Kehl* enthalten ist, denn *curvans* · <sup>h</sup>*Hookeri* ergibt 6,8. Eher ist anzunehmen, daß *subcurvans* aus *Oe. parviflora* sich in dem Sinn geändert hat, daß anstatt eines Viererringes 2 Bivalente entstanden sind. Die große floristische Ähnlichkeit von *Oe. Kehl* mit *Oe. parviflora* deutet ja in die gleiche Richtung.

*Oenothera rubricuspis*. Auf dem von RENNER (1950) angegebenen Bahngelände südlich von Frankfurt a. M. blühte 1952 *Oe. rubricuspis* in großer Zahl, aber mindestens doppelt so groß war die Zahl der nichtblühenden Rosetten. Zum Teil waren diese in den Blattspreiten überaus stark rot gefärbt. Ohne Zweifel war dies eine Folge der großen Dürre des Sommers 1952 auf dem mageren Sandboden. Wohl aus den gleichen Gründen waren die blühenden Pflanzen



auch selten über 1 m groß und fast alle völlig unverzweigt. 1953 bei Aufzucht der geernteten Samen im Garten war dagegen die Rotfärbung der Rosettenblätter weit schwächer, während die Pflanzen durchweg mannshoch wurden, sich stark verzweigten und die von RENNER (1950) beschriebene Wuchsform zeigten.

Bei der Aufzucht im Garten waren 9 Pflanzen normal und hatten starke Rotfärbung an den Knospenspitzen, rote Blattadern und rote Haarbasen, während bei 7 anderen Pflanzen jegliche Rotfärbung fehlte. Weitere Unterschiede gegenüber der Normalform sind der Tabelle 2 zu entnehmen, wobei mit „Rot“ die Normalform, wie sie RENNER (1950) beschreibt, mit „Grün“ die abweichende Form bezeichnet ist.

Tabelle 2

Rot	Grün
Blätter schmal lanzettlich, Nerv $\pm$ rot, Rand ungezähnt	Blätter etwa doppelt so breit wie bei „Rot“, Nerv farblos. Rand schwach gezähnt
Blüten 12—13 mm Kronblattlänge	Kronblattlänge 18—20 mm
Narbe unten zwischen den Antheren	Narbe oben zwischen den Antheren
Knospen an der Spitze blutrot	Knospen einfarbig grün
Haarbasen rot	Haarbasen farblos
Konfiguration 014	Konfiguration 10, 4

RENNER erhielt bei Wildabsaaten von *Oe. rubricuspis* die beiden Bastarde mit *Oe. biennis*, doch scheint es sich bei der vorliegenden Form „Grün“ um eine andere Kombination zu handeln. Sie unterscheidet sich außer in den aufgezählten Merkmalen nicht von der Normalform „Rot“, vor allem hat sie die gleiche Art der Verzweigung und die gleichen dünnen, schlanken Stengel, die bei keiner anderen in Südwestdeutschland gefundenen Art ähnlich ausgebildet sind. Übrigens hatten die Pflanzen der Form „Rot“ auffallend kleine Blüten, nämlich 12—13 mm, nicht 20 mm, wie RENNER angibt. Am Fundort bei Frankfurt wurde „Grün“ nicht festgestellt. *Oe. rubricuspis* wurde hauptsächlich an der Bahnstrecke Frankfurt a. M.—Luisa—Neu-Isenburg gefunden, außerdem wuchs sie etwa 1 km weit entlang der abzweigenden Bahnlinie zum Sportfeld. Sonstige Vorkommen haben sich anscheinend bisher noch nicht bilden können.

*Oenothera Luisa*. An der Bahnstrecke bei Luisa standen zwischen den *Oe. rubricuspis* etwa 2 Dutzend Pflanzen, die im Wuchs stark der bei RENNER (1937) abgebildeten *Oe. ammophila* glichen, jedoch fehlte ihnen die Rotfärbung der Haarbasen völlig. Sechs weitere Pflanzen von gleichem Aussehen wurden außerdem am südlichen Zufahrtsgeleise zum Rhein-Main-Flughafen, 7 km südwestlich von der obengenannten Stelle gefunden. Sonst konnte diese Form nirgendwo beobachtet werden.

Wieweit diese „*Oe. Luisa*“ bezeichnete Sippe außer durch das Fehlen der Haarbasenfärbung sich sonst noch floristisch von *Oe. ammophila* FOCKE unterscheidet, kann nicht sicher gesagt werden, weil *Oe. ammophila* als Vergleichsmaterial fehlte. Konfigurativ ist jedoch ebenfalls ein Unterschied vorhanden: *Oe. Luisa* hat als Konfiguration einen Ring von 14, *Oe. ammophila* FOCKE dagegen nach RENNER (1950) 12,2. Kreuzungen von *Oe. Luisa* mit anderen Arten wurden nicht hergestellt.

Am meisten Ähnlichkeit hat *Oe. Luisa* anscheinend mit der von RENNER (1937 und 1942) beschriebenen „*albi-percurva impunctata*“ aus der Gegend von Jüterbog, jedoch unterscheidet sie sich von jener durch ihre Konfiguration (Ring von 14), während die Form von Jüterbog 12,2 hat. Wieweit vielleicht noch Beziehungen zwischen *Oe. rubricuspis* „Grün“ und *Oe. Luisa* bestehen, konnte vorläufig nicht festgestellt werden.

## II. Einige Versuche und Beobachtungen zur Verbreitung und Veränderung der *Oenotheren* des bearbeiteten Gebietes

**Ein Konkurrenzversuch.** Einige Anzeichen deuteten darauf hin, daß *Oe. Rimsingen* im Gelände vitaler ist und sich rascher ausbreitet als *Oe. Lamarckiana* Altenheim. Durch einen Versuch unter möglichst natürlichen Bedingungen sollte diese Annahme nachgeprüft werden. Große Mengen Samen von beiden Typen wurden im Spätsommer 1952 abgeerntet, in gleicher Zahl gemischt und an zwei günstigen Stellen auf der Gemarkung Altenheim am 19. 9. 52 ausgestreut. In einem Falle handelte es sich um die kiesige Erdaufschüttung an einem besonders großen Westwallbunker, im anderen Falle um den Kies, der beim Ausbaggern des Mühlbaches im Gewann<sup>1</sup> „Rheinmatt“ aufgehäuft worden war. Im Juni 1953 zeigten sich die ersten Rosetten aus dieser Absaat; sie wuchsen bis zum Spätherbst mächtig heran und hatten vielfach über 75 cm Durchmesser, jedoch blühte keine einzige Pflanze schon im Jahre 1953. Erst 1954 kamen die meisten von ihnen zur Blüte und ermöglichten damit eine Auszählung der beiden Formen. Die Zahl der blühenden *Oe. Lamarckiana* Altenheim in den Sommern 1954, 1955 und 1956 ist der von *Oe. Rimsingen* in Tabelle 3 gegenübergestellt.

Tabelle 3

	Kuppelbunker			Rheinmatt		
	5. 7. 1954	24. 8. 1955	30. 7. 1956	5. 7. 1954	24. 8. 1955	30. 7. 1956
<i>Oe. Lamarckiana</i> Altenheim . . . . .	27	13	14	43	6	36
<i>Oe. Rimsingen</i> . . . . .	71	48	69	106	45	122
Verschiedene Bastarde und nicht mehr blühende Pflanzen . . . . .	7	30	39	24	36	56

Bei den 1955 blühenden Pflanzen handelte es sich um 1952 ausgesäte, aber erst 1954 gekeimte Samen sowie um 1954 sitzengebliebene Rosetten, während die 1956 blühenden Pflanzen zweifellos zum größten Teil von den 1954 gereiften Samen stammten und sicherlich nur zu einem geringen Teil noch direkt auf die Aussaat von 1952 zurückgingen. Es zeigte sich auch hier, daß zwar die Mehrzahl der reifen Samen im folgenden Jahr keimt und im übernächsten Sommer zur Blüte kommt, daß aber ein erheblicher Rest länger ruht und erst später auskeimt. Eine entsprechende Beobachtung konnte an *Oe. chicaginensis* Merianstraße auf einem Schuttplatz bei Freiburg gemacht werden: 1955 betrug die Zahl der blühenden Pflanzen 163, 1956 39.

Dieser Versuch zeigt jetzt schon, daß *Oe. Rimsingen* sich wesentlich vitaler verhält als *Oe. Lamarckiana* Altenheim, denn bereits in der ersten Aussaat war ihre Zahl schon etwa  $2\frac{1}{2}$ mal so groß, während sie in der ersten an Ort und Stelle aufgewachsenen Generation etwa  $3\frac{1}{2}$  bzw. 5mal so groß war. Allerdings ist zu beachten, daß die zur Zeit der Zählung nicht mehr blühenden Pflanzen eine erhebliche Fehlerquelle darstellen können.

**Eine Wildabsaat von *Oe. suaveolens* Altenheim.** Bereits bei der ersten Aufzucht von *Oe. suaveolens* Altenheim aus 1951 geernteten Wildsamern traten unter 100 Pflanzen mehrere auch noch untereinander verschiedene Abweicher auf, die nur durch Fremdbestäubung zu erklären sind. Das Vorkommen von *Oe. Lamarckiana* und *Oe. biennis* in nächster Nachbarschaft der Pflanze, von der die Samen geerntet wurden, machten diese Deutung wahrscheinlich. Ferner sprechen die jeweiligen Diakinese-konfigurationen der Abweicher für Fremdbestäubung. Unter den Nachkommen späterer Aufzuchten aus geselbsteten, normal aussehenden *Oe. suaveolens* Altenheim waren niemals mehr irgendwelche Abweicher.

Um Art und Anzahl der Abweicher festzustellen, wurden 1954 1000 Samen der Ernte 1951 ausgezählt, auf die übliche Weise angekeimt und fortlaufend pikiert. Unter den zuerst gekeimten und pikierten Pflänzchen war die Zahl der Ausfälle gering, stieg bei den später keimenden immer höher an und erreichte im letzten Pikierkasten 66%. Bei den Ausfällen hat es sich wahrscheinlich zum größten Teil um homozygote *flavens* · *flavens*-Keimlinge gehandelt. Die meisten davon waren zu schwach, um die Samenschale von den Kotyledonen

<sup>1</sup> Gewann = Bezeichnung für kleine Abteilungen einer Gemarkung.

abzuwerfen und starben rasch ab, einige andere erst später. Nach dem Auspflanzen der Rosetten gab es nur noch geringe Ausfälle.

Unter 310 Pflanzen, die zur Blüte kamen, waren 41 Abweicher, die ziemlich gleichmäßig in der ganzen Aufzucht verteilt waren. Folgende Kombinationen waren vorhanden (Tabelle 4):

Die von den Standardformen abweichenden Konfigurationen lassen sich als Folge des abgeänderten *flavens*-Komplexes in *Oe. suaveolens* Altenheim zwanglos erklären. Für eine kurzgriffelige Art wie *Oe. suaveolens* ist 13,2% ein bemerkenswert hoher Prozentsatz von Abweichern. Selbstverständlich läßt dieser eine Versuch noch keine allgemeinen Schlüsse zu, denn die Nähe von *Oe. Lamarckiana* und *Oe. biennis* war hier der Bastardierung besonders günstig. Die Pflanze Nr. 287 war ziemlich klein und schwach und auffallend stark verzweigt, kam aber später doch noch zur Blüte. Die 7 Bivalente in der Diakinese zeigen eindeutig, daß es sich um eine homozygote *flavens* · *flavens* handelte.

Tabelle 4

Komplex-Kombinationen	Anzahl	Konfiguration
<i>albicans</i> · <i>flavens</i>	269	10, 2, 2
<i>albicans</i> · <i>gaudens</i>	7	6, 8
<i>albicans</i> · <i>velans</i>	3	014
<i>albicans</i> · <i>rubens</i>	4	6, 8
<i>flavens</i> · <i>gaudens</i>	13	12, 2
<i>flavens</i> · <i>velans</i>	9	6, 4, 2, 2
<i>flavens</i> · <i>rubens</i>	4	12, 2
<i>flavens</i> · <i>flavens</i>	1	7 Bivalente

**Die Häufigkeit des Auftretens von Abweichern im Gelände und im Garten.** In Beständen von wilden Oenotheren im Gelände, wie bei Aufzuchten im Garten, können von der typischen Form abweichende Pflanzen in ganz unterschiedlicher Anzahl auftreten. So ist Bastardierung überall da zu erwarten, wo verschiedene Arten nahe genug beieinander wachsen. Schon nach wenigen Generationen können die Bastarde, die sich wegen ihrer Komplexkonstitution vielfach konstant reproduzieren, unter Umständen zahlreicher als ihre Eltern sein. Manche neue Bastardform übertrifft ihre Eltern an Vitalität und kann sich als neue Art behaupten. Beispiele führt RENNER (1950) mehrfach an. Daß sich im Gelände homozygotische Typen durchsetzen können, die nach dem Verlust ihrer Letalfaktoren, wie die oben erwähnte *Oe. lutescens*, zuweilen entstehen, ist wegen ihrer mangelhaften Vitalität ganz und gar unwahrscheinlich und auch nie beobachtet worden.

Von den klassischen „Mutanten“, die teilweise noch auf die Studien von DE VRIES zurückgehen, wurde folgendes ermittelt: *Oe. Nanella* aus *Oe. Lamarckiana* wurde wildwachsend nie gefunden, doch trat bei einer Wildabsaat von *Oe. Lamarckiana* Altenheim unter 20 Pflanzen eine auf, die wahrscheinlich eine *Oe. nanella* war. Diese Pflanze ging ein, ohne Blüten zu bilden. *Oe. biennis cruciata* fand sich nirgends, wohl aber *cruciata* der *Oe. biennis* var. *angustifolia* in großer Zahl am Luitpoldhafen in Ludwigshafen an der bei HEINE (1950/51) angegebenen Stelle. *Oe. biennis sulfurea* ist in ganz Südwestdeutschland in einer Häufigkeit von etwa 1—2% zwischen *Oe. biennis* eingestreut. Sie kommt teils einzeln, teils in kleineren Gruppen vor. In letzterem Fall kann man als sicher annehmen, daß die individuelle Entstehung schon weiter zurückliegt und eine Nachkommenschaft sich durchgesetzt hat. Erwähnt sei hier ein Bestand von *Oe. biennis sulfurea* am Bahnhof Hirschsprung im Höllental, der von anderen Vorkommen der *Oe. biennis* isoliert ist und alljährlich *Oe. biennis sulfurea* in verschiedener Anzahl enthält. Es handelt sich hier also offensichtlich um einen Parallellfall zu dem *sulfurea*-Vorkommen in Kronsberg bei Hannover, das OEHLKERS (1924) beschreibt. Die abweichende Form der *Oe. biennis* von Stockstadt am Main, die RENNER (1950) beschreibt, wurde 1952 nicht gefunden.

*Oe. suaveolens sulfurea* wurde trotz der großen Zahl von *suaveolens*-Pflanzen im ganzen Gebiet nur an zwei Stellen gefunden: Im Gewinn Steinsporen bei Altenheim wurde *Oe. suaveolens sulfurea* 1952 am Rheinufer erstmals beobachtet und ist seither dort in jedem Sommer in einigen Exemplaren zu finden. Am Bauhof des Wasserstraßenamtes im Kehler Hafen fand sich 1955 *Oe. suaveolens sulfurea*, und zwar in 2 Exemplaren dicht beieinander. Aus Samen, die 1953 an der gleichen Stelle geerntet und 1954 im Garten aufgezogen worden waren, ging ein *Oe. sulfurea* neben 19 gelben *Oe. suaveolens* hervor. Auch hier ist es wahrscheinlich, daß sowohl die 1954 in einjähriger Kultur aufgezogene *Oe. suaveolens sulfurea* als auch die beiden 1955 am Bauhof gefundenen auf eine gemeinsame frühere Mutterpflanze zurückgehen. Im Gelände ist das Erkennen von *sulfurea*-Pflanzen an heißen, sonnigen Tagen erschwert, weil



schon am späten Vormittag die normalen gelben Blüten mehr und mehr ausbleichen und in der Farbe der *sulfurea* immer ähnlicher werden. Deshalb ist es möglich, daß zuweilen, besonders 1952, *sulfurea*-Pflanzen übersehen wurden.

Weißscheckung wurde bei Wildpflanzen mehrfach beobachtet: 1. Bei einem nicht näher analysierten *Oe. Lamarckiana*-Bastard in einer Kiesgrube bei Norsingen, 2. bei *Oe. biennis* an je einem Exemplar in Freiburg auf Trümmern und bei Grissheim am Rheinufer. Eine riemenblättrige Pflanze wurde 1953 am Karlsplatz in Freiburg gefunden. Da sie keinerlei Blütenknospen entwickelt hatte, war auch keine Bestimmung durch ihre Konfiguration möglich. Wahrscheinlich handelte es sich um eine riemenblättrige *Oe. parviflora*, denn nur diese Art war in der Umgebung zu finden. Verbänderungen in allen Graden der Ausbildung, bis zu etwa 5 cm Stengelbreite im Höchstfall, wurden an wilden Oenotheren öfters beobachtet, besonders an *Oe. parviflora*. Bei Aufzucht im Garten wurde dagegen kein einziger Fall festgestellt.

**Verbreitung, Vitalität und Feinde der Wildoenotheren.** Die Häufigkeit der Oenotheren im untersuchten Gebiet ist recht unterschiedlich. Im südlichen Teil der Rheinebene sind diese Pflanzen fast nur an Eisenbahnen und Hochwasserdämmen, an den Ufern kanalisierten Flüsse, auf Trümmern und Schuttplätzen zu finden, außerdem noch auf den Resten der zahlreichen gesprengten Westwallbunker. Ganz anders wird die Verteilung etwa von Rastatt an nordwärts. Die Ebene besteht zum großen Teil aus Sandboden, Kiefern treten an die Stelle der Laubwälder, und Oenotheren sind in lichten Gehölzen in Mengen anzutreffen. Auch Feldraine und verunkrautete Äcker haben sie erobert, ebenso die Ränder der Autobahn. Selbstverständlich sind auch hier Bahnen, Trümmer und Schuttplätze dicht besiedelt. Von Bingen an rheinabwärts beschränkt sich das Verbreitungsgebiet auf die schmalen Uferstreifen zwischen Gebirge und Strom. Hafenanlagen sind im ganzen Gebiet ergiebige Fundorte. In den größeren Schwarzwaldtälern finden sich Oenotheren nur auf Bahndämmen und an den verbauten Ufern der Flüsse. Seit 1952 ist eine starke Abnahme der Oenotheren festzustellen, die offensichtlich 2 Hauptgründe hat: Witterung und menschliche Eingriffe. Die feuchten Sommer 1953, 1954, 1955 und 1956 begünstigten das Wachstum von Gräsern und anderen Pflanzen, die nun keine Oenotheren mehr aufkommen lassen. In dichtem Rasen vermag sich keine Rosette zu entwickeln. Als stärkster Konkurrent erwies sich auf weiten Strecken am Oberrhein die immer noch weiter vordringende *Solidago canadensis*. Einige aufeinanderfolgende dürre Sommer würden wahrscheinlich wiederum eine Ausbreitung der Oenotheren begünstigen. Auf der Gemarkung Altenheim ging die Zahl der Oenotheren von 1952—1956 auf etwa  $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{12}$  zurück, hauptsächlich wohl deshalb, weil am Rheinufer nur noch selten durch Erdarbeiten die Pflanzendecke zerstört wird und damit für Oenotheren günstige Verhältnisse geschaffen werden.

Die menschlichen Eingriffe sind verschiedener Art: Die Trümmer in den Städten verschwinden mehr und mehr, und mit ihnen die Oenotheren. Die Bundesbahn bekämpft in steigendem Maße den Pflanzenwuchs zwischen den Geleisen mit chemischen Mitteln, und hierdurch ging z.B. die Zahl der Oenotheren im Offenburger Verschiebebahnhof auf etwa  $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$  des Bestandes von 1951 zurück. Entsprechende Beobachtungen wurden im Kehler Hafen gemacht. Dabei handelt es sich aber wohl kaum um eine Abnahme der Oenotheren auf lange Sicht, sondern nur um eine Rückkehr auf den Stand vor dem Kriege.

## D. Diskussion der Ergebnisse

Selbst neuere Exkursionsfloren, wie z.B. SCHMEL-FITSCHEN (1952) nennen nur wenige Arten von Oenotheren: *Oe. biennis*, *Oe. muricata* zum Teil auch noch *Oe. ammophila*. Daß es darüber hinaus noch zahlreiche weitere Arten in Mitteleuropa gibt, hat RENNER in mehreren Arbeiten (1937, 1938, 1942, 1943, 1946, 1950, 1956) ausgeführt und zusammengestellt. Ebenso legt RENNER dar, wie es durch Bastardierung zu Neukombinationen kommen kann, die zum Teil sehr vital sind, sich rasch ausbreiten und als weitere Arten neben den älteren auftreten oder diese gar verdrängen. Auch in unserem Gebiet kam es zu derartigen Bastardierungen sowie zur Einwanderung von Formen, die bisher für diese Gegenden unbekannt waren. OBERDORFER (1949) nennt außerdem noch „*Oe. grandiflora*“.

Ganz offensichtlich sind unter diesem Namen die verschiedensten Arten und neuen Bastarde zusammengefaßt, während eine Form, die der in der Freiburger Sammlung enthaltenen *Oe. grandiflora* auch nur ähnlich war, nie gefunden wurde. HEINE (1950/51) nennt „*Oe. grandiflora*“ für Altrip bei Ludwigshafen und für Jugenheim an der Bergstraße. Im ersteren Falle wurde bei eigenen Nachprüfungen *Oe. suaveolens*, bei Jugenheim aber *Oe. Lamarckiana* festgestellt. Außerdem kamen bei Jugenheim auch noch die Bastarde von *Oe. Lamarckiana* mit *Oe. biennis* vor, nämlich *relans* · *rubens* und *albicans* · *gaudens*, die beide ebenfalls recht großblütig sind.

Es läßt sich heute nur noch schwer feststellen, wie lange die verschiedenen Oenotheren schon in Südwestdeutschland eingebürgert sind. Nur einige mehr oder weniger sichere Angaben aus der Literatur geben brauchbare Hinweise. LEHMANN (1922) hat die ältesten Angaben sowie neuere Nachforschungen nach dem ersten Auftreten von Oenotheren in Europa zusammengestellt und kommt zu folgendem Ergebnis: 1614 kamen die ersten Oenotherensamen aus Virginia über England nach Padua und wurden dort aufgezogen. 1619 bezog BAUHN von dort Samen und säte sie in Basel aus. Damit gelangten erstmals Oenotheren in unser Gebiet. Um welche Art es sich dabei handelte, läßt sich aber heute nach den unklaren Angaben nicht mehr feststellen, und Herbarmaterial aus jener Zeit ist nicht mehr vorhanden. — Es ist möglich, daß bereits in den folgenden Jahren diese fragliche *Oenothera* als Gartenflüchtling ins Freie gelangte, denn BAUHN schreibt 1623: „In horto eleganter crevit et ex semine deciduo se facile haetenus propagavit.“ Jedenfalls muß *Oe. biennis* 1½ Jahrhunderte später im Oberrheingebiet bereits weit verbreitet gewesen sein, denn POLLICH schreibt 1777: „... Copiosa circa Mannheim ad Rheni ripam.“ Der nächste Hinweis findet sich 1829 in SPENNERS „Flora Friburgensis“; er nennt *Oe. biennis* „frequentissima“. Im gleichen Werk begegnet uns auch eine weitere Art zum ersten Male: „*Oe. parviflora* L. in glareosis prope Haslach ad Drisamiae ripas frequens; sine dubio olim ex horto botanico emigravit, nunc quasi spontanea! — Primus legit amicus Leiner Pharm.“ Ob die wilde *Oe. parviflora* unserer Gegend wirklich aus dem Botanischen Garten stammt, kann heute wohl kaum noch nachgeprüft werden. Möglich ist dies durchaus, denn der Botanische Garten lag damals an der Dreisam und wurde mehrmals durch Hochwasser verwüstet. Und der Vermerk SPENNERS: „Primus legit . . .“ läßt darauf schließen, daß *Oe. parviflora* 1829 noch nicht allzu lange als Wildpflanze bekannt war. Noch heute hat *Oe. parviflora* ihr hauptsächliches Verbreitungsgebiet in der Freiburger Bucht und wurde an anderen Orten Südwestdeutschlands niemals in größeren Beständen gefunden.

W. KOCH entdeckte „*Oe. biennis* ssp. *suaveolens*“ 1922 bei Waldshut am Hochrhein und fand sie 1925 an der Kandermündung bei Markt „reichlich“. 1952 war *Oe. suaveolens* hier ebenfalls in größerer Zahl zu finden, und zwar die oberrheinische Form mit der Konfiguration 10, 2, 2 (*Oe. suaveolens* Altenheim). Bemerkenswert ist, daß die beiden auffallendsten unter den Oenotheren Südwestdeutschlands, *Oe. Lamarckiana* Altenheim und *Oe. Rimsingen*, in keiner Weise für diesen Platz erwähnt sind, sondern nur „*Oe. biennis* var. *vulgaris*“. Demnach waren also 1925 diese beiden großblütigen Formen hier anscheinend noch nicht vorhanden, während sie 1952 gerade an der Kandermündung häufiger als irgendwo sonst vorkamen.

Eine schon mehrfach gemachte Feststellung fand auch in den vorliegenden Untersuchungen erneut ihre Bestätigung: die einzelnen Komplexe sind in ihrer Beständigkeit sehr verschieden, und damit sind natürlich auch die einzelnen aus ihnen gebildeten Arten von unterschiedlicher Konstanz. Als sehr einheitlich erwies sich *Oe. biennis*, bei der außer den Varianten *sulfurea* und *angustifolia* keinerlei abweichende Formen gefunden wurden, obwohl doch gerade *Oe. biennis* ganz besonders zahlreich vorkommt. Ganz entgegengesetzt liegen die Verhältnisse bei *Oe. suaveolens*, die sich als die labilste von allen gefundenen Arten erwies. Dabei scheint ihre Labilität fast ausschließlich in ihrem *flavens*-Komplex zu beruhen, denn außer in der verschiedenen Vitalität von *albicans* im Verhältnis

zu *flavens* konnten keine Unterschiede der *albata* festgestellt werden. *Oe. Lamarckiana* Altenheim hat zwar in der Diakinese die gleiche Konfiguration wie *Oe. Lamarckiana* DE VRIES, indessen weicht sie in ihrem phänotypischen Verhalten bei Kreuzungen mit *Oe. Hookeri* von dieser Form ab. Auch floristisch sind deutliche Unterschiede feststellbar, wie S. 42 beschrieben wurde.

### Zusammenfassung

Es wurde versucht festzustellen, welche wildwachsenden *Oenothera* in Südwestdeutschland vorkommen und wie weit sie verbreitet sind. Folgende Feststellungen wurden gemacht:

1. Außer den schon länger bekannten Arten der Gattung *Oenothera* sind in Südwestdeutschland noch neue unbekannte Typen mehr oder weniger stark verbreitet.

2. Von den „alten“, schon lange bekannten Arten, wurden gefunden: *Oe. biennis* im ganzen Gebiet häufig. *Oe. biennis* var. *angustifolia* in der mittleren und nördlichen Rheinebene. *Oe. parviflora* in der Freiburger Bucht häufig, am Rhein einzeln. *Oe. suaveolens* am Ober- und Mittelrhein verbreitet. *Oe. Lamarckiana* am Oberrhein und bei Darmstadt. *Oe. chicaginensis* in und bei Freiburg.

3. Teilweise bilden diese Arten Lokalformen aus, die sich floristisch, genetisch und zytologisch von den Standardformen mehr oder weniger stark unterscheiden. Als besonders variabel erwies sich *Oe. suaveolens*.

4. Außer den „alten“ Arten wurden neue Formen gefunden, die keiner bisher beschriebenen Art gleichen. Ihre Herkunft ist meist noch unklar, daher werden sie nach ihrem ersten Fundort bezeichnet. Es sind im einzelnen: *Oe. Rimsingen* zwischen Basel und Kehl, *Oe. Burkheim* bei Burkheim am Kaiserstuhl, *Oe. Goldscheuer* am Ober- und Mittelrhein, *Oe. Kehl* in Mittelbaden, besonders im Kehler Hafen, *Oe. Luisa* bei Frankfurt a. M.

5. Die Komplexe in den einzelnen Arten sind sehr verschieden in ihrer Stabilität. Als besonders stabil erwies sich *albicans*, als besonders labil *flavens*.

6. Die Zahl der in Südwestdeutschland vorkommenden Formen vergrößert sich noch fortgesetzt, sowohl durch Einwanderung bisher noch nicht vorkommender Arten, als auch durch die Bildung konstanter Bastarde aus schon vorhandenen Arten.

Herrn Professor Dr. F. OEHLKERS danke ich für die Überlassung des Themas und für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte. Außerdem gilt mein Dank Fräulein Dr. A. HOFFMANN für ihre Unterstützung während der Arbeit.

### Literatur

- BAUHIN, C.: Pinax theatri botanici. 1623. Zit. bei LEHMANN 1922. — BECHERER, A.: Ein neues Vorkommen von *Oe. biennis* ssp. *suaveolens* in Baden. Mitt. Bad. Landesver. Naturkde u. Naturschutz Freiburg, N.F. 1, 1—25. — BEYER, G.: Die Herkunft und Zusammensetzung der Trümmerflora in Freiburg. Staatsexamensarb. W. S. 1947/48, unveröffentlicht. — CLELAND, R. E. u. Mitarb.: Studies in *Oenothera*, Cytogenetics and Phylogeny. Ind. Univ. Publ. Ser. 16, Bloomington 1950. — HEINE, H. H.: Beiträge zur Kenntnis der Ruderal- und Adventivflora von Mannheim, Ludwigshafen und Umgebung. Jber. Ver. Naturkde Mannheim 1950/51, 85—132. — JAPHA, B.: Die Meiosis von *Oenothera*. II. Z. Bot. 34, 321—369 (1939). — KISCH, R.: Die Bedeutung der Wasserversorgung für den Ablauf der Meiosis. Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. VI. Jb. wiss. Bot. 15, 450—484 (1937). — LEHMANN, E.: Die Theorien der *Oenothera*-Forschung. Jena: Gustav Fischer 1922. —



OBERDORFER, E.: Pflanzensoziologische Excursionsflora für Südwestdeutschland und die angrenzenden Gebiete. Stuttgart/Ludwigsburg: Eugen Ulmer 1949. — OEHLKERS, F.: Vererbungsversuche an Oenotheren. III. Das *sulfurea*-Merkmal bei den Oenotheren. Biol. Zbl. **44**, 1—9 (1924). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. I. Z. Bot. **29**, 1—53 (1935). — Untersuchungen zur Physiologie der Meiosis. III. Z. Bot. **30**, 253—276 (1936). — Neue Versuche über cytologisch-genetische Probleme (Physiologie der Meiosis). Biol. Zbl. **57**, 126—149 (1937). — POLLICH, J.A.: Historia plantarum in Palatinatu Electorali sponte nascentium. Mannheim 1776/77. Zit. bei HEINE 1950/51.) — RENNER, O.: Die Scheckung der Oenotheren-Bastarde. Biol. Zbl. **44**, 309—336 (1924). — Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora (Jena), N.F. **30**, 218—290 (1935/36). — Wilde Oenotheren in Norddeutschland. Flora (Jena) **131**, 182—226 (1937 a). — Alte und neue Oenotheren in Norddeutschland. Fedde Rep., Beih. C **1938**, 94—105. — Europäische Wildarten von *Oenothera*. Ber. dtsh. bot. Ges. **60**, 448—466 (1942). — Kurze Mitteilungen über *Oenothera*. V. Zur Kenntnis von *Oe. silesiaca* n. sp. *parviflora* L., *ammophila* FOCKE, *rubricaulis* CLEB. Flora (Jena), N.F. **36** (1943). — Artbildung in der Gattung *Oenothera*. Naturwiss. **33** (1946). — Europäische Wildarten von *Oenothera*. II. Ber. dtsh. bot. Ges. **63**, 129—138 (1950). — Europäische Wildarten von *Oenothera*. III. Planta (Berl.) **47**, 219—254 (1956). — SCHMEIL-FITSCHEN: Flora von Deutschland. Heidelberg: Quelle & Meyer 1952. — SPENNER, F.C.L.: Flora Friburgensis et regionum proxime adiacentium, Bd. III. Friburgi: Typis Friderici Wagner 1829.

Dr. ADOLF KAPPUS,

Botanisches Institut der Universität Freiburg i.Br., Schänzleweg 9/11

---

Aus dem Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung Berlin-Dahlem  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. H. KAPPERT)

# UNTERSUCHUNGEN ÜBER INTERALLELE WECHSELWIRKUNGEN \*

## I. DIE UNVOLLSTÄNDIGE DOMINANZ DES *el*-FAKTORS VON A. MAJUS

Von

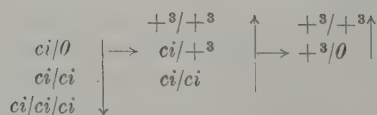
W. SEYFFERT

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 21. Dezember 1956)

### I. Einleitung

Die Abhängigkeit der Merkmalsausprägung von der Wirkung in ihrer Anzahl veränderter genetischer Faktoren wurde schon 1901 von CORRENS am Endosperm des Maiskornes untersucht. CORRENS kreuzte gelbkörnige Maispflanzen (*bb*) als Mutter mit blaukörnigen (*BB*) als Vater und fand im Bastard (*Bbb*) eine hellere Blaufärbung des Endosperms als nach der Kreuzung blaukörnig (*BB*)  $\times$  gelbkörnig (*bb*) = (*BBb*). Er interpretierte die Zunahme der Farbtintensität in der Reihe *bbb* < *Bbb* < *BBb* < *BBB* als Dosiseffekt des unvollständig dominanten Blaufaktors. Auch F. v. WETTSTEIN (1924) beobachtete bei verschiedenen Merkmalen der Sporogone von *Funaria hygrometrica* echte Dosiswirkungen. Aus jüngerer Zeit sind besonders die Untersuchungen von RHOADES (1941), SAGER (1951), BRIX (1955), BRIX und QUADT (1955), WRICKE (1955) und BÖHME und SCHÜTTE (1956) zu nennen, in denen in der Regel aber nur die beobachteten und gemessenen Dosiseffekte beschrieben werden. Der Versuch, eine Erklärung für die Entstehung des Dosiseffektes zu finden, wurde von MÜLLER (1932) unternommen, der die Wirkung mutierter Allele untersuchte und sie in Beziehung zu der des Normalallels setzte. Er kam auf Grund seiner Beobachtungen zu der heute nicht mehr allgemein anerkannten Einteilung in hypomorphe, amorphe, hypermorphe, antimorphe und neomorphe Faktoren. STERN, der diese Klassifizierung, ebenso wie GOLDSCHMIDT (1955), ablehnt, untersuchte (1943—1948) die Dosiswirkung verschiedener *cubitus interruptus*-Allele der *Drosophila melanogaster* und interpretierte die dabei nach der Vermehrung desselben Allels bzw. nach Zufügung eines oder mehrerer anderer Allele beobachtete verschiedenartige Dosiswirkung als *interallele Interferenz*. So wurde beispielsweise mit zunehmender Zahl der *ci*-Allele eine Zunahme der Normalität beobachtet, während die Normalität in Verbindung mit dem selbst als schwach wirkendes *ci*-Allel zu bezeichnenden  $+^3$ -Allel trotz steigender *ci*-Dosis abnahm. Dies geht aus dem folgenden Schema, in dem die Pfeile die Zunahme der Normalität anzeigen, deutlich hervor:



wobei 0 eine Defizienz (M-4) bedeutet. Auch andere *ci*-Allele zeigen jene interallele Interferenz.

\* Frau Professor Dr. E. SCHIEMANN zum 75. Geburtstag gewidmet.

Zwischen den Allelen eines Locus oder ihren Produkten muß also eine Art Wechselwirkung bestehen, die in dem zitierten Beispiel zum Phänomen der unvollständigen Dominanz führt, d. h., daß wir in jener Wechselwirkung möglicherweise die Ursache der unvollständigen Dominanz vor uns haben. GOLESCHMIDT, loco cit., der das Interferenzphänomen eingehend diskutiert, lehnt zwar die Sternsche Interpretation, unter dem Hinweis auf die Möglichkeit einer verschiedenartigen physiologischen Wirkung der Allele, beispielsweise einer Steuerung der Reaktionsgeschwindigkeit einerseits und einer Kontrolle der Substanzmenge andererseits, ab, ohne aber einen überzeugenden Gegenbeweis gegen STERNs Hypothese anzuführen.

Wenn nun tatsächlich eine enge Beziehung zwischen der Wechselwirkung der Allele und ihrem Dominanzgrad bestünde, dann müßte es möglich sein, bei allen Genen, die nur eine quantitativ unterscheidbare Wirkung besitzen, d. h., deren Wirkung nicht vom „alles oder nichts“-Typ ist, eine ihrem Dominanzgrad entsprechende Wechselwirkung nachzuweisen. So wäre es denkbar, daß unvollständige Dominanz durch wechselseitige Hemmung, Superdominanz durch gegenseitige Förderung der Allele entstünde.

Eine wesentliche Voraussetzung für exakte Dosisversuche ist, daß Unsicherheitsfaktoren bei der Variation der Gendosis nach Möglichkeit ausgeschaltet werden. Die Unsicherheit in STERNs Versuchen liegt vor allem in dem Vergleich Homozygoter oder Heterozygoter mit Hemizygoten, bei denen die Wirkung der Defizienz nicht von der einfachen Dosiswirkung des Gens unterschieden werden kann. Es erscheint daher vorteilhafter mit Polyploidien zu arbeiten, wobei mit MELCHERS (1946) zu fordern ist, daß der genetische Hintergrund weitgehend konstant gehalten wird, so daß als einziger Unsicherheitsfaktor nur die durch die Änderung der Polyploidiestufe bedingten physiologischen Unterschiede zu berücksichtigen sind.

## II. Material und Methoden

### a) Material

Die vorliegenden Untersuchungen wurden an diploiden und experimentell hergestellten tetraploiden Bastarden aus der Kreuzung „*Sippe 50*“  $\times$  „*Standard*“ von *Antirrhinum majus*<sup>1</sup> durchgeführt. Da sich die beiden Elterformen im wesentlichen nur durch die beiden Mutationen „*El*“ und „*del*“ unterscheiden, erscheinen sie für Dosisversuche besonders geeignet.

Als Ausgangsmaterial dienten reziproke Kreuzungen der diploiden *Sippe 50* (*El El del del*) mit der von SCHICK und STUBBE (1934) so bezeichneten Standard-sippe (++ ++). Diploide F<sub>1</sub>-Bastarde wurden als Samen 24 Std mit 0,1%iger bzw. 48 Std mit 0,05%iger Colchizininlösung behandelt. Der Behandlungserfolg wurde durch Messung des Längen-Breitenverhältnisses der Pollen vorläufig und durch die zytologische Untersuchung der Meiosis nach Fixierung im Ernstschen Gemisch endgültig beurteilt. Zur Weiterzucht wurden neben diploiden Pflanzen nur eindeutig als tetraploid erkannte verwandt. Sie zeigten neben anderen morphologischen Änderungen gegenüber Diploiden eine signifikante Verringerung des Längen-Breitenindex der Pollen von  $2,04 \pm 0,002$  auf  $1,56 \pm 0,005$  ( $P < 0,001$ ).

<sup>1</sup> Der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. H. STUBBE verdanken wir die Überlassung des Materials. Herr Dr. G. WRICKE stellte freundlicherweise das von ihm colchizinierte Saatgut der Bastarde zur Verfügung. Ihnen sei an dieser Stelle ergebenst gedankt.



Im November 1954 colchizinierte Bastarde blühten im Juni 1955. Sie wurden geselbstet und unmittelbar nach der Ernte ausgesät, so daß die Spaltungsgeneration nach Anzucht im Kalthaus noch im gleichen Jahr, von Mitte bis Ende Oktober, beurteilt werden konnte.

F<sub>1</sub>-Bastarde aus der Kreuzung der fast weiß blühenden *Sippe 50* mit der intensiv magentafarbigem *Standardsippe* zeigen die unvollständige Dominanz des *El*-Faktors durch die aufgehellt magentafarbigem Lippen an. Da der *del*-Faktor nur die Färbung der Blütenkronröhre kontrolliert, wurde er bei dem Vergleich der Lippenfärbung nicht berücksichtigt.

Die Colchizinierung einer diploiden Heterozygoten ergibt eine tetraploide Duplexpflanze, deren Selbstungsnachkommenschaft bei Annahme einer Chromosomenspaltung im Verhältnis 1:8:18:8:1 aufspalten müßte. Tatsächlich konnten auch fünf verschiedene Phänotypenklassen mit den nachstehend angegebenen Häufigkeiten beobachtet werden:

Phänotyp	beobachtet	ideal	Genotyp	
Intensiv magenta . .	12	8	++++	Die Abweichung von den Idealwerten ist mit einem $P_{(4)} = 0,48$ nicht signifikant
Dunkel magenta . . .	65	64	El+++	
Hell magenta . . . .	143	144	ElEl++	
Sehr hell magenta . .	55	64	ElElEl+	
Fast weiß . . . . .	8	8	ElElElEl	
	288			

#### b) Extraktionsmethode

Als Maß für die dosisabhängige Hemmungswirkung des *El*-Faktors wurden von den verschiedenen Genotypen Anthocyanextrakte hergestellt, deren Konzentration kolorimetrisch gemessen wurde.

Hierzu wurden aus Blüten diploider und tetraploider Genotypen je 5 flächengleiche Teile mit einem Korkbohrer von 8 mm Durchmesser, je 2 aus der Ober- und 3 aus der Unterlippe, ausgestochen, gewogen und mit 15 cm<sup>3</sup> 1%iger HCl nach Zerreiben in der Reibschale extrahiert. Die Absorptionswerte der gefilterten Anthocyanextrakte wurden im Universalkolorimeter nach Dr. B. LANGE, Berlin, unter Verwendung eines Grünfilters VG 9 (maximale Durchlässigkeit von 509—546 m $\mu$ ) in Verbindung mit einem Multiflexgalvanometer gemessen. Da zwischen Konzentration und Meßwert keine völlig lineare Beziehung besteht, wurden alle Meßwerte mit Hilfe einer Eichkurve auf die relative Konzentration einer Verdünnungsreihe bezogen.

#### c) Beurteilung der Dosisfunktion

Zur Darstellung der wahrscheinlichsten Funktion, die die Abhängigkeit der Meßwerte ( $y$ ) von der Zahl der *El*-Faktoren ( $x$ ) am besten wiedergibt, eignet sich die Kurvenanpassung mit Hilfe der Methode der kleinsten Quadrate. Hierbei erhält man, von der Annahme einer linearen, quadratischen, kubischen oder einer Funktion höheren Grades ausgehend, Funktionswerte, deren Übereinstimmung mit den Meßwerten mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten  $R$  beurteilt werden kann. Aus der Art der am besten angepaßten Funktion können dann nicht nur die Linearität des Dosiseffektes, sondern u. U. auch besondere Eigenschaften der Wirkungsweise des betreffenden Faktors erschlossen werden.



sein, andererseits durch eine quantitative Änderung der Anthocyankonzentration hervorgerufen werden. Um zwischen beiden Möglichkeiten unterscheiden zu können, wurden die Blütenextrakte der diploiden Genotypen nach einer bereits früher beschriebenen Methode (SEYFFERT 1955) papierchromatographisch untersucht. Qualitative Unterschiede waren jedoch weder im Flavon- oder Flavonol- noch im Anthocyangehalt zwischen den verschiedenen Genotypen zu erkennen. Hieraus wurde geschlossen, daß die Wirkung des *Eluta*-Faktors auf einer quantitativen, dosisabhängigen Änderung (Hemmung) einer durch andere Gene bedingten Anthocyanbildung beruht. Die daraufhin vorgenommenen kolorimetrischen Messungen der Anthocyankonzentration im Oktober 1955 blühender tetraploider Genotypen zeigten eindeutig die schon phänotypisch gut erkennbare Abhängigkeit der Anthocyankonzentration von der Gendosis:

Genotyp	Meßwert $m$	$n$
<i>El El El El</i>	$21,84 \pm 3,24$	7
<i>El El El +</i>	$31,32 \pm 0,95$	53
<i>El El + +</i>	$43,87 \pm 1,19$	128
<i>El + + +</i>	$60,22 \pm 1,78$	57
<i>+ + + +</i>	$103,80 \pm 5,46$	10

Aus den angeführten Zahlen ist zu ersehen, daß die Änderung der Anthocyankonzentration in Abhängigkeit von der Gendosis offenbar nicht linear verläuft. Der nichtlineare Charakter der Dosiseffektkurve wird besonders deutlich, wenn die wahrscheinlichste Funktion für die Abhängigkeit der Meßwerte ( $y$ ) von

der Zahl der *El*-Faktoren ( $x$ ) ermittelt und ihre Übereinstimmung mit den beobachteten Daten geprüft wird. Wird der Reihe nach eine lineare, eine quadratische und eine kubische Funktion nach dem auf S. 59 beschriebenen Verfahren an den Verlauf der Meßwerte angepaßt und die Güte der Anpassung durch die Berechnung des multiplen Korrelationskoeffizienten  $R$  überprüft, so ergeben sich folgende Gleichungen:

1. linear:

$$y = 90,78 - 19,28 x \quad (R = 0,95710)$$

2. quadratisch:

$$y = 101,05 - 39,84 x + 05,14 x^2 \quad (R = 0,99364)$$

3. kubisch:

$$y = 103,47 - 57,16 x + 17,22 x^2 - 02,01 x^3 \quad (R = 0,99932).$$

Wie aus dem Vergleich der Korrelationskoeffizienten hervorgeht, ist die beste Übereinstimmung zwischen beobachteten und berechneten Werten bei einer Parabel 3. Grades gegeben. Das bestätigt die Annahme, daß der Dosiseffekt keinesfalls linear sein kann. Außerdem ist bei näheren Untersuchungen zu erkennen, daß diese Funktion bei dem Wert  $x = 2,85$  einen Wendepunkt besitzt.

Setzt man nämlich die zweite Ableitung  $F''(x) = 0$ , so erhält man:

$$F''(x) = 34,44 - 12,06 x = 0,$$

nach  $x$  aufgelöst ergibt sich daraus  $x = 2,85$ .

Nun könnte aber gegen die Verwendung der von flächengleichen Blütenteilen erhaltenen Meßwerte zur Berechnung der obigen Funktionen eingewandt werden, daß das unterschiedliche Gewicht dieser Teile unberücksichtigt geblieben ist und somit nicht die wahren Beziehungen zwischen Gendosis und Meßwert erhalten worden seien.



Wird jedoch die Regression zwischen dem Frischgewicht eines Blütenblatteiles und dem zugehörigen Meßwert für jeden Genotyp gesondert errechnet und der mittlere Meßwert eines Genotyps bei signifikanter Regression auf sein Durchschnittsgewicht bezogen, ergeben sich nur unwesentliche Änderungen. Die so korrigierten Meßwerte lauten nunmehr:

Auch die Anpassungsfunktionen ändern sich nur geringfügig, so daß auch hier ein Wendepunkt der Funktion dritten Grades, bei dem Wert  $x=2,84$ , nachgewiesen werden kann.

Ein Wendepunkt bei dem Wert  $x=2,8$  bedeutet, daß die Gendosiseffektkurve in der Nähe des Genotyps  $ElElEl+$  ihre Richtung ändert, sie geht von der ursprünglich konkaven in die konvexe Form über und zeigt damit an, daß die Zunahme der Hemmungswirkung mit steigender Zahl der  $El$ -Faktoren bis etwa zum Genotyp  $ElElEl+$  progressiv abnimmt, während diese Abnahme beim Übergang zum Genotyp  $ElElElEl$  wieder geringer wird. Die Richtungsänderung der Funktion ist nicht sehr stark. Wird aber angenommen, daß sie bedeutsam ist, wäre hieraus zu schließen, daß zwischen den Allelen des *Eluta*-Locus eine Wechselwirkung in der Form besteht, daß die Wirkungen der Allele einander genau entgegengesetzt sind und sich somit teilweise wieder aufheben. Unter dieser Voraussetzung müßte nicht die absolute Zahl der  $El$ -Faktoren, sondern das Verhältnis  $El:+$  das Ausmaß der Hemmungswirkung bestimmen. Eine Überprüfungsmöglichkeit für diese Annahme ergibt sich aus der Folgerung, daß dann diploide Simplex- und tetraploide Duplextypen, von der Wirkung der Genomverdoppelung an sich abgesehen, etwa die gleiche Anthocyankonzentration besitzen müßten. Vergleicht man die entsprechenden Phänotypen rein visuell, so scheint das in der Tat der Fall zu sein, jedoch ist ein exakter Vergleich zwischen diploiden und tetraploiden Genotypen natürlich erst dann möglich, wenn die durch die Genomverdoppelung bedingten Unterschiede und ihr Einfluß auf die Meßwerte erfaßt und ausgeschaltet werden können. Prinzipiell kann das auf 2 Wegen geschehen: entweder durch die Wahl eines geeigneten Bezugssystems oder durch den Versuch, den Einfluß der Tetraploidie rechnerisch zu ermitteln.

Genotyp	korrigierter Meßwert	<i>m</i>	<i>n</i>
<i>El El El El</i>	21,662 ± 3,268		7
<i>El El El +</i>	31,301 ± 0,957		53
<i>El El - +</i>	44,093 ± 1,174		128
<i>El - + + +</i>	60,207 ± 1,786		57
<i>+ + + +</i>	103,797 ± 5,106		10

#### a) Der Vergleich über verschiedene Bezugssysteme

Der Vergleich der Meßwerte diploider und tetraploider Genotypen über ein Bezugssystem hat zum Ziel, die nur durch die Genomverdoppelung bedingten Änderungen der Anthocyankonzentration nach Möglichkeit auszuschalten. Als Korrekturfaktoren sind daher solche meßbaren Eigenschaften besonders geeignet, die die Wirkung der Genomverdoppelung möglichst vollkommen widerspiegeln. Jedoch gibt es bisher keine Möglichkeit zu überprüfen, in welchem Umfang eine Korrektur mit Hilfe einer bestimmten Meßgröße tatsächlich zu einer Ausschaltung des Polyploidieeffektes führt. Wir verwendeten daher mehrere Bezugsgrößen, um auch die Wirkung der verschiedenartigen Korrekturen vergleichen und gegeneinander abwägen zu können.

Im Herbst eingetopfte, zurückgeschnittene und im Gewächshaus kultivierte Pflanzen wurden im Frühjahr 1956 erneut kolorimetrisch gemessen. Vor jeder Messung wurde nunmehr das Frischgewicht, das Trockengewicht (nach 4stündiger

Trocknung im Trockenschrank bei 60° C) und der Wasserverlust während der Trocknung, als Maß für den Wassergehalt, von flächengleichen Teilen der Ober- und Unterlippen ermittelt. Außerdem wurden die durchschnittliche Zellzahl und das durchschnittliche Zellvolumen der diploiden und tetraploiden Genotypen gemessen. Hierbei wurden nur die Zellen der oberen (inneren) und unteren (äußeren) Blütenblattepidermis berücksichtigt, da Anthocyan nur in der Epidermis vorkommt.

Zur Zellzählung wurden je 0,59 mm<sup>2</sup> große Teile der Ober- und Unterlippen bei 156facher Vergrößerung mit dem Abbéschen Zeichenapparat gezeichnet und ihre Zellzahl ermittelt. Die aus der Messung von je 5 Blüten aller Pflanzen erhaltenen Durchschnittswerte sind:

	Zellzahl diploid	Zellzahl tetraploid	relativ
untere Epidermis	309,0 ± 17,9	161,4 ± 6,9	1,0 0,52
obere Epidermis	542,4 ± 29,3	353,4 ± 14,7	1,0 0,65

Die Bestimmung des Zellvolumens wurde durch die Unregelmäßigkeit der Zellformen erschwert. Zellen der unteren Epidermis sind in der Aufsicht stark ineinander verzahnt, im Querschnitt mehr oder weniger trapezförmig. Ihr Volumen wurde so bestimmt, daß zunächst Grundriß und Querschnitt bei 565facher Vergrößerung mit dem Zeichenapparat gezeichnet wurden. Die Fläche des Grundrisses wurde dann mit einem Wichmannschen Präzisionsplanimeter ausgemessen und aus 2000 Zellen für jeden Genotyp gemittelt. Der Querschnitt der Zellen wurde auf der Zeichnung in 2 mm breite, senkrecht zur Basis verlaufende Streifen eingeteilt, deren durchschnittliche Höhe für jede Zelle gemessen wurde. Aus der Multiplikation der Durchschnittshöhe aller Zellen eines Genotyps mit der durchschnittlichen Grundfläche wurde schließlich das Zellvolumen erhalten.

Zellen der oberen Epidermis sind papillenförmig mit einem vieleckigen, nahezu kreisförmigen Grundriß und einem birnenförmigen Querschnitt. Es lag daher nahe, ihr Volumen als Rotationskörper zu berechnen, jedoch ist die bei Anwendung der Guldinschen Regel (SINNER 1949) erforderliche Bestimmung des Schwerpunktes einer Querschnittshälfte bei derart ungleichmäßig geformtem Umriß zu arbeitsaufwendig. Das Volumen der oberen Epidermiszellen wurde daher als die Summe der Volumina kreisförmiger Scheiben, deren Mittelpunkte durch die Symmetrieachse des birnenförmigen Querschnittes verbunden sind, errechnet. Die in der beschriebenen Weise erhaltenen Näherungswerte für die Zellvolumina diploider und tetraploider Pflanzen sind:

	diploid	tetraploid	relativ
untere Epidermis	79 678 ± 3001 µ <sup>3</sup>	174 318 ± 6790 µ <sup>3</sup>	1,0 2,06
obere Epidermis	27 228 ± 4405 µ <sup>3</sup>	44 129 ± 5618 µ <sup>3</sup>	1,0 1,62

In der Tabelle 1 sind die auf die Flächeneinheit, das Frischgewicht, den Wassergehalt, das Volumen der gemessenen Zellen und auf die Einzelzelle bezogenen Ergebnisse der kolorimetrischen Messungen dargestellt. Zur Korrektur der von flächengleichen Teilen erhaltenen Meßwerte wurde der Regressionskoeffizient zwischen dem Frischgewicht (bzw. dem Wassergehalt) und dem Meßwert mit Hilfe einer Covarianzanalyse innerhalb der Polyploidiestufen errechnet und der Kolorimeterwert auf einen für beide Stufen gemeinsamen Mittelwert bezogen. Um Fehler bei der Korrektur zu vermeiden, wurde dieser Durchschnittswert so errechnet, daß die durchschnittliche Korrektur bei diploiden und tetraploiden Genotypen gleich groß ist<sup>1</sup>. Das ist der Fall, wenn

$$\bar{x}_{1,2} = \frac{b_1 \bar{x}_1 + b_2 \bar{x}_2}{b_1 + b_2}$$

<sup>1</sup> Vergleichbare Werte sind nur dann zu erhalten, wenn die Meßwerte diploider und tetraploider Genotypen auf einen gemeinsamen Mittelwert bezogen werden. Würde jedoch willkürlich der Durchschnittswert einer der Polyploidiestufen als Bezugsbasis gewählt, würde die Korrektur innerhalb dieser Polyploidiestufe nur gering, innerhalb der jeweilig anderen dagegen erheblich sein. Es ist daher erforderlich, den Durchschnitt so zu wählen, daß die Korrektur bei beiden Polyploidieklassen durchschnittlich gleich groß wird.

gesetzt wird, wobei  $b_1$  und  $b_2$  die Regressionskoeffizienten,  $x_1$  und  $x_2$  die Mittelwerte der unabhängigen Variablen der diploiden und tetraploiden Individuen sind.

Das Trockengewicht entfiel als Bezugsbasis, da die mit Hilfe der Kovarianzanalyse errechneten Regressionskoeffizienten nicht signifikant größer als Null waren.

Soll die Anthocyankonzentration auf die Einzelzelle und auf das Volumen der gemessenen Fläche bezogen werden, kann die Kovarianzanalyse nicht angewandt werden, da die Werte der unabhängigen<sup>1</sup> und der abhängigen<sup>1</sup> Variablen nicht an denselben Blüten gemessen werden können. Das oft angewandte Verfahren der Quotientenbildung zwischen dem Meßwert einer jeden Pflanze und ihrer Zellzahl, bzw. dem Produkt aus Zellzahl und -volumen, um auf diese Weise auf die Einzelzelle, bzw. das Volumen der gemessenen Fläche, zu beziehen, ist jedoch abzulehnen, weil hierbei auch die in diesem Fall nicht unerhebliche zufällige Variabilität der unabhängigen Variablen auf die abhängigen übertragen wird. Es ist daher nur die Möglichkeit gegeben, die Meßwerte auf einen Gesamtdurchschnitt der unabhängigen Variablen innerhalb der zugehörigen Polyploidiestufe zu beziehen.

Wie der Vergleich der unveränderten, von der Flächeneinheit gemessenen Werte mit den auf eine bestimmte Meßgröße bezogenen lehrt, ist die bei Annahme einer interallelen Wechselwirkung zu erwartende Ähnlichkeit der Meßwerte diploider Simplex- und tetraploider Duplextypen nach einer Korrektur mit Hilfe des Frischgewichtes, des Wassergehaltes und des Zellvolumens in der

Tabelle 1. Übersicht über die Meßwerte der Genotypen  
verglichen über verschiedene Bezugssysteme

Bezugsbasis		Zahl der <i>El</i> -Faktoren					<i>m</i>	FG
		0	1	2	3	4		
Flächeneinheit	<i>d</i>	90,08	23,00	12,29			± 2,12	24
	<i>t</i>	85,68	68,15	34,91	22,58	15,16	± 3,66	40
Frischgewicht	<i>d</i>	94,85	32,02	08,52			± 1,60	23
	<i>t</i>	83,09	64,74	31,21	19,08	11,63	± 3,69	39
Wassergehalt	<i>d</i>	94,99	30,17	10,29			± 1,93	23
	<i>t</i>	82,80	64,84	31,24	18,71	11,54	± 3,69	39
Zellvolumen	<i>d</i>	22,87	05,84	03,12			± 0,53	24
	<i>t</i>	19,59	15,58	07,98	05,16	03,46	± 0,93	40
Einzelzelle	<i>d</i>	105,79	27,01	14,43			± 2,48	24
	<i>t</i>	166,43	132,38	67,81	43,85	29,45	± 4,29	40

*d* = diploide, *t* = tetraploide Genotypen.

Tat zu beobachten. Dagegen besteht weder bei den unkorrigierten noch bei den auf die Einzelzelle bezogenen die genannte Übereinstimmung, vielmehr ist die Differenz zwischen diploiden und tetraploiden Genotypen bei den auf die Einzelzelle bezogenen Werten gegenüber den von der Flächeneinheit gemessenen noch vergrößert. Das ist darauf zurückzuführen, daß die Einzelzelle von einer Verdoppelung des Genoms durch die Änderung des Zellvolumens, des Wassergehaltes u. dgl. unmittelbar betroffen wird und somit den besten Maßstab für die tatsächlichen Unterschiede zwischen verschiedenen Polyploidiestufen bietet. Das heißt, daß in diesem Fall der Einfluß der Tetraploidie nicht ausgeschaltet, sondern vielmehr weitgehend berücksichtigt wurde.

<sup>1</sup> Nach JOHANNSEN (1926) „supponierte“ und „relative“ Variable.



Das Verhältnis der verschiedenen Meßwerte zueinander ist aus der Abb. 1, in der die relative Anthocyankonzentration (tetraploide Nulliplexotypen = 100 gesetzt) dargestellt ist, noch deutlicher zu ersehen.

Im linken Teil der Darstellung sind die unmittelbar von der Fläche erhaltenen, im mittleren die auf ein durchschnittliches Frischgewicht, Zellvolumen oder einen durchschnittlichen Wassergehalt und im rechten die auf die Einzelzelle bezogenen Meßwerte dargestellt.

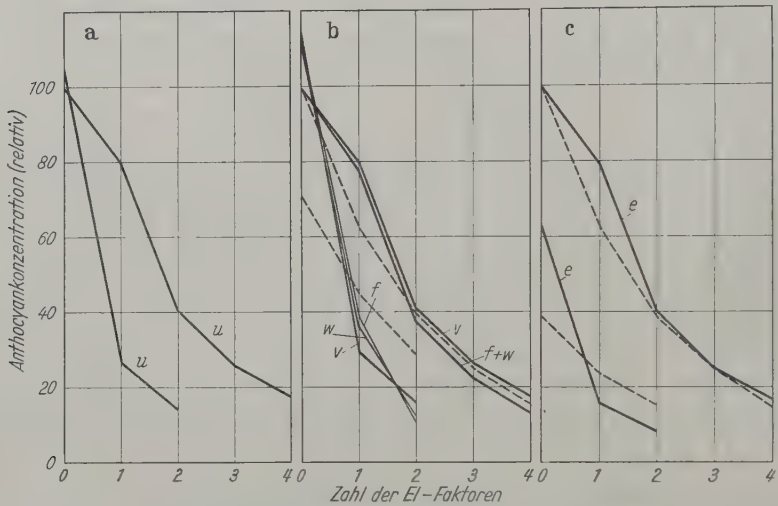


Abb. 1. Übersicht über die Meßwerte der Genotypen bezogen auf Flächeneinheit ( $u$ ), Frischgewicht ( $f$ ), Wassergehalt ( $w$ ), Zellvolumen ( $v$ ) und Einzelzelle ( $e$ ). Genotyp + + + + = 100; punktiert: theoretische Werte (Erläuterung S. 72—73)

Das Ergebnis der oben genannten Vergleiche könnte also als Bestätigung für die Richtigkeit der Annahme einer Wechselwirkung zwischen den Allelen des *El*-Locus gedeutet werden, da tatsächlich nicht die absolute Zahl der *El*-Allele, sondern offenbar das Verhältnis zwischen *El*- und Normalfaktoren das Ausmaß der Hemmungswirkung bestimmt.

### b) Schätzung der Gen- und Genomwirkung

Jedem Vergleich über ein bestimmtes Bezugssystem haftet ein prinzipieller Mangel an: es ist nie mit Sicherheit festzustellen, in welchem Umfang der Einfluß der Genomvervielfachung tatsächlich erfaßt und eliminiert wurde. Jede noch so sorgfältige Korrektur wird stets nur einen Teil der Wirkung erfassen, und es gibt keine Handhabe, die Größe dieses Anteils zu bestimmen. Ferner ist es unmöglich, eine zuverlässige Aussage über die Art und das Ausmaß einer möglichen Interaktion zu erhalten. Ein völlig neuer Weg wird dagegen mit dem Versuch eingeschlagen, gleichzeitig die Wirkung der einzelnen Allele einerseits und die Wirkung der Genomverdoppelung andererseits rechnerisch zu ermitteln. Hierzu ist es erforderlich, für jeden möglichen Genotyp eine Ausgangsgleichung aufzustellen, in der sowohl die Wirkung der Allele als auch die der jeweiligen Polyploidiestufe berücksichtigt wird. Bevor solche Ausgangsgleichungen jedoch aufgestellt werden können, ist zunächst zu untersuchen, welche Möglichkeiten des Zusammenwirkens

der Allele es gibt und welche Art der Wirkung für das vorliegende Beispiel als die wahrscheinlichste zutrifft.

Grundsätzlich können Allele als Summanden oder als Faktoren wirken, wobei es einerseits denkbar ist, daß ihre Wirkung sowohl untereinander als auch miteinander gleichartig ist, d. h., daß *Normal*- und *El*-Faktoren durchweg additiv oder durchweg multiplikativ wirken, und andererseits, daß sie untereinander anders als miteinander wirken, also z. B. untereinander additiv und miteinander multiplikativ oder umgekehrt. Natürlich könnten noch weitere Arten des Zusammenwirkens der Allele erdonnen werden, jedoch genügen die vorgelegten Möglichkeiten zur Erklärung der Beobachtungstatsachen vollauf. Versucht man nun, diese Möglichkeiten zunächst nur in Hinblick auf die Allelwirkung durch eine entsprechende Ausgangsgleichung darzustellen, und bezeichnet man mit  $x$  die „Valenz“ des *El*-Allels, d. h. die Fähigkeit, den Meßwert des Merkmals „Farbstoffkonzentration der Blüte“ um eine bestimmte Einheit zu ändern, mit  $y$  die entsprechende Valenz des Normalallels und mit  $a, b, \dots e$  die Meßwerte der Genotypen  $ElElElEl, \dots ++++$ , so erhält man, demonstriert am Beispiel tetraploider Genotypen, die nachfolgend aufgeführten vier verschiedenen Gleichungssysteme:

(1)	(2)	(3)	(4)
additiv + additiv	multiplikativ $\times$ multiplikativ	additiv $\times$ additiv	multiplikativ + multiplikativ
$a = 4x$	$a = x^4$	$a = 4x$	$a = x^4$
$b = 3x + y$	$b = x^3 y$	$b = 3xy$	$b = x^3 + y$
$c = 2x + 2y$	$c = x^2 y^2$	$c = 4xy$	$c = x^2 + y^2$
$d = x + 3y$	$d = xy^3$	$d = 3xy$	$d = x + y^3$
$e = 4y$	$e = y^4$	$e = 4y$	$e = y^4$

Setzt man in diese Formeln für eine der Unbekannten  $x$  oder  $y$  den Wert 0 ein, so ist bei additiver Allelwirkung nur das jeweils andere Allel allein für die Ausbildung des Phäns verantwortlich. Für die multiplikative Allelwirkung gilt, daß keiner der beiden Werte  $\neq 1$  sein darf, wenn nicht ein Allel allein wirken soll. Wenn nun zwischen den Allelen eine Wechselwirkung der Art existiert, daß beide Allele einen Einfluß auf die Merkmalsausbildung haben, muß die Auflösung dieser Gleichungen bei additiver Wirkung sowohl für  $x$  als auch für  $y$  einen Wert  $\neq 0$ , bei multiplikativer  $\neq 1$  ergeben.

An Hand dieser Gleichungen ist es ferner möglich, von vornherein zu entscheiden, welche Art der Allelwirkung für das vorliegende Beispiel zutrifft. So ist auf einen Blick zu ersehen, daß Beispiel (3) nicht als Erklärungsmöglichkeit in Frage kommen kann, da diese Art der Allelwirkung bedingen würde, daß die Meßwerte der Genotypen  $ElElEl+ (=b)$  und  $El++++ (=d)$  gleich sind. Auch mit der letzten Art der Allelwirkung (4) können die beobachteten Werte nicht erklärt werden, da bei  $x$ - und  $y$ -Werten, die beide kleiner oder beide größer als 1 sind, Superdominanz und bei Werten von  $x > 1$  und  $y < 1$  oder umgekehrt, eine extreme Über- oder Unterlegenheit eines der homozygoten Genotypen beobachtet werden müßte, die im vorliegenden Beispiel nicht gegeben ist.

Zwischen einer durchweg additiven (1) und durchweg multiplikativen Allelwirkung (2) kann ohne Schwierigkeit entschieden werden, da für jeden denkbaren Wert  $x$  oder  $y$  gilt, daß bei additiver Wirkung der Meßwert eines Genotyps stets das arithmetische, bei multiplikativer dagegen stets das geometrische Mittel

der Meßwerte unmittelbar „benachbarter“ Genotypen darstellt. Das heißt mit anderen Worten, daß bei additiver Allelwirkung stets eine lineare, bei multiplikativer dagegen stets eine nichtlineare Gendosiseffektkurve erhalten werden muß.

Die schon eingangs nachgewiesene bessere Übereinstimmung mit einer nichtlinearen Funktion (S. 60) ist aber so offensichtlich, daß die Annahme einer durchweg additiven Allelwirkung als unwahrscheinlich ausgeschlossen, die einer durchweg multiplikativen dagegen als die wahrscheinlichste angesehen werden kann. Von dieser Voraussetzung ausgehend wäre nunmehr das unter (2) aufgeführte Gleichungssystem nach  $x$  und  $y$  aufzulösen, um über die Valenz der beiden Allele eine Aussage über die Art der interallelen Wechselwirkung zu erhalten. Würde innerhalb jeder Polyploidiestufe so verfahren, erhielte man jedoch Werte, die keinesfalls die tatsächlichen Verhältnisse widerspiegeln. Es ist an dieser Stelle daran zu erinnern, daß das Allelenpaar ( $El/+$ ) nicht selbst für die Pigmentbildung verantwortlich ist, sondern vielmehr die Quantität eines durch andere Faktoren gebildeten Pigmentes modifiziert. Das heißt, daß die ursprünglich, ohne die Einwirkung der Allele des  $El$ -Locus, vorhandene Anthocyanmenge unbekannt ist. Damit entfällt aber sowohl die exakte Bestimmung der Allelvalenz als auch jede Vergleichsmöglichkeit zwischen den Polyploidiestufen. Berücksichtigt man jedoch, daß auch die „Dosis“ der anthocyanbildenden Faktoren einschließlich des genetischen Hintergrundes, der möglicherweise ebenfalls auf die Konzentration einwirkt, durch die Änderung der Polyploidiestufe variiert wird, so ergibt sich damit eine elegante Möglichkeit, gleichzeitig mit der Schätzung der Polyploidiewirkung die ursprünglich vorhandene Anthocyanmenge zu ermitteln. Es ist lediglich erforderlich, die für diploide und für tetraploide Genotypen aufgestellten Gleichungssysteme durch eine 3. Unbekannte ( $v$ ), die die Wirkung der Genomverdoppelung repräsentiert, zu verbinden und die so erhaltenen Gleichungen mit 3 Unbekannten nach  $x$ ,  $y$  und  $v$  aufzulösen. Bezeichnen wir wie im obigen Beispiel die Valenz des  $El$ -Faktors mit  $x$ , die des Normalallels mit  $y$  und setzen zur Vereinfachung der Rechnung die Wirkung des genetischen Hintergrundes  $v = 1/z$ , so daß diploide Genotypen durch den Faktor  $z$ , tetraploide durch  $z^2$  gekennzeichnet sind, dann setzt sich beispielsweise der Meßwert ( $b$ ) des Genotyps  $ElElEl+$  aus den folgenden Komponenten zusammen:  $b = x^3 y z^2$ . In entsprechender Weise sind alle anderen Ausgangsgleichungen zusammengesetzt, wobei die Symbole  $a$  bis  $e$  die Meßwerte der tetraploiden,  $f$  bis  $h$  die der diploiden Genotypen kennzeichnen:

$$\left. \begin{aligned} a &= x^4 z^2 \\ b &= x^3 y z^2 \\ c &= x^2 y^2 z^2 \\ d &= x y^3 z^2 \\ e &= y^4 z^2 \\ f &= x^2 z \\ g &= x y z \\ h &= y^2 z \end{aligned} \right\} \quad (5)$$

Die Lösung dieses Gleichungssystems müßte die wahren Werte von  $x$ ,  $y$  und  $z$  ergeben, mit denen die unverfälschten Beziehungen zwischen den Allelen einerseits und mit dem genetischen Hintergrund andererseits eindeutig zu charakterisieren wären.



Wie alle Meßwerte sind aber auch die in diesen Gleichungen verwandten mit einem Fehler behaftet. Es ist daher erforderlich, bei der Lösung der Gleichungen ihre wahrscheinlichsten Werte mit Hilfe der Methode der kleinsten Quadrate zu ermitteln. Setzt man für die Fehler der Meßwerte die Symbole  $m$  bis  $t$  ein, löst die Gleichungen nach  $m$  bis  $t$  auf und quadriert, so ergibt sich hieraus:

$$\left. \begin{aligned} m^2 &= (x^4 z^2 - a)^2 \\ n^2 &= (x^3 y z^2 - b)^2 \\ o^2 &= (x^2 y^2 z^2 - c)^2 \\ p^2 &= (x y^3 z^2 - d)^2 \\ q^2 &= (y^4 z^2 - e)^2 \\ r^2 &= (x^2 z - f)^2 \\ s^2 &= (x y z - g)^2 \\ t^2 &= (y^2 z - h)^2 \end{aligned} \right\} \quad (6)$$

Die Meßwerte sind dann die wahrscheinlichsten, wenn die Summe ihrer Fehlerquadrate ein Minimum wird. Die Werte  $m^2, n^2, \dots, t^2$  sind also partiell nach  $x, y, z$  zu differenzieren, ihre ersten Ableitungen sind  $=0$  zu setzen und insgesamt zu summieren:

$$\left. \begin{aligned} \frac{1}{2} \frac{\Delta(m^2)}{\Delta x} &= 4x^3 z^2 (x^4 z^2 - a) = 4x^7 z^4 - 4ax^3 z^2 = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(n^2)}{\Delta x} &= 3x^2 y z^2 (x^3 y z^2 - b) = 3x^5 y^2 z^4 - 3bx^2 y z^2 = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(o^2)}{\Delta x} &= 2xy^2 z^2 (x^2 y^2 z^2 - c) = 2x^3 y^4 z^4 - 2cxy^2 z^2 = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(p^2)}{\Delta x} &= y^3 z^2 (xy^3 z^2 - d) = xy^6 z^4 - dy^3 z^2 = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(q^2)}{\Delta x} &= 0 = 0 = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(r^2)}{\Delta x} &= 2xz (x^2 z - f) = 2x^3 z^2 - 2fzx = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(s^2)}{\Delta x} &= yz (xyz - g) = xy^2 z^2 - gyz = 0 \\ \frac{1}{2} \frac{\Delta(t^2)}{\Delta x} &= 0 = 0 = 0 \end{aligned} \right\} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} &4x^7 z^4 + 3x^5 y^2 z^4 + 2x^3 y^4 z^4 + xy^6 z^4 + 2x^3 z^2 + xy^2 z^2 \\ &- 4ax^3 z^2 - 3bx^2 y z^2 - 2cxy^2 z^2 - dy^3 z^2 - fzx - gyz = 0 \end{aligned} \quad (8a)$$

Die Gln. (7) werden ausmultipliziert und summiert. In gleicher Weise wird bei der Ableitung nach  $y$  und  $z$  verfahren, aus der die beiden folgenden Gleichungen erhalten werden:

$$\begin{aligned} &x^6 y z^4 + 2x^4 y^3 z^4 + 3x^2 y^5 z^4 + 4y^7 z^4 + x^2 y z^2 + 2y^3 z^2 \\ &- bx^3 z^2 - 2cx^2 y z^2 - 3dxy^2 z^2 - 4ey^3 z^2 - gxz - hyz = 0 \end{aligned} \quad (8b)$$

$$\begin{aligned} &2x^8 z^3 + 2x^6 y^2 z^3 + 2x^4 y^4 z^3 + 2x^2 y^6 z^3 + 2y^8 z^3 + x^4 z + x^2 y^2 z + y^4 z \\ &- 2ax^4 z - 2bx^3 y z - 2cx^2 y^2 z - 2dxy^3 z - 2ey^4 z - fx^2 - gxy - hy^2 = 0 \end{aligned} \quad (8c)$$

Dieses Gleichungssystem ist am einfachsten mit dem speziellen Fall eines Iterationsverfahrens, dem Newton-Raphson'schen Näherungsverfahren (WILLERS 1950), zu lösen. Es beruht im wesentlichen darauf, daß man in einem Punkt in der Nähe des gesuchten Nullpunktes den Funktionswert errechnet und die erste Ableitung bildet. Für  $n$  beliebige Gleichungen mit  $n$  Unbekannten erhält man auf diese Weise ein System von  $n$  linearen Gleichungen. Setzt man für die Gl. (8a)  $= F(x, y, z) = 0$ , für (8b)  $= G(x, y, z) = 0$  und für (8c)  $= H(x, y, z) = 0$  und führt für die ersten, angenommenen Näherungswerte das Symbol  $x_1, y_1$  und  $z_1$  ein, so ist:

$$\left. \begin{aligned} F(x, y, z) &\approx F(x_1, y_1, z_1) + F_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + F_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + F_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ G(x, y, z) &\approx G(x_1, y_1, z_1) + G_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + G_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + G_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ H(x, y, z) &\approx H(x_1, y_1, z_1) + H_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + H_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + H_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \end{aligned} \right\} \quad (9)$$

Aus diesen Gleichungen können die neuen Näherungswerte  $x_2$ ,  $y_2$  und  $z_2$  errechnet werden, sofern die Funktionaldeterminante

$$\begin{vmatrix} F_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + F_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + F_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ G_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + G_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + G_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ H_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + H_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + H_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \end{vmatrix} = D \neq 0 \quad (10)$$

ist. Es wird dann  $x_2 = x_1 - \Delta x_1$ ,  $y_2 = y_1 - \Delta y_1$  und  $z_2 = z_1 - \Delta z_1$ , wobei

$$x_1 = \frac{D_x}{D}, \quad y_1 = \frac{D_y}{D}, \quad z_1 = \frac{D_z}{D} \quad (11)$$

und

$$\begin{vmatrix} F(x_1, y_1, z_1) + F_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + F_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ G(x_1, y_1, z_1) + G_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + G_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ H(x_1, y_1, z_1) + H_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + H_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \end{vmatrix} = D_x \quad (12)$$

$$\begin{vmatrix} F_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + F(x_1, y_1, z_1) + F_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ G_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + G(x_1, y_1, z_1) + G_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \\ H_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + H(x_1, y_1, z_1) + H_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 \end{vmatrix} = D_y \quad (13)$$

$$\begin{vmatrix} F_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + F_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + F(x_1, y_1, z_1) \\ G_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + G_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + G(x_1, y_1, z_1) \\ H_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 + H_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 + H(x_1, y_1, z_1) \end{vmatrix} = D_z \quad (14)$$

sind. Mit den neuen Näherungswerten wird das Iterationsverfahren solange fortgesetzt, bis die Werte  $x_n$ ,  $y_n$  und  $z_n$  mit ausreichender Genauigkeit bestimmt worden sind, d. h., bis  $\Delta x_n$ ,  $\Delta y_n$  und  $\Delta z_n$  so klein geworden sind, daß sie vernachlässigt werden können. Sofern die ersten Näherungswerte nur nahe genug gewählt werden, erhält man auf diese Weise eine sehr schnelle Annäherung. Zur Erleichterung der Rechenarbeit bedient man sich mit Vorteil des Horner-schen Schemas, mit dem die Werte der Funktionen und ihrer ersten Ableitung in kurzer Zeit errechnet werden können (WILLERS 1950).

Bevor aber die Meßwerte in die obenstehenden Gleichungen eingeführt werden, ist zu untersuchen, welche der vorliegenden Werte sich für diese Berechnung eignen.

Es ist einleuchtend, daß zur Ermittlung des Polyploidieeffektes nur solche Werte brauchbar sind, bei denen die Wirkung der Genomverdoppelung nicht bereits durch eine Korrektur mehr oder weniger eliminiert worden ist. Das heißt, daß, wie auf S. 63 gezeigt, nur die auf die Einzelzelle bezogenen Anthocyankonzentrationen in Frage kommen.

Wie ein überschlägiger Vergleich der in der Tabelle I aufgeführten Werte lehrt, repräsentieren diese Meßwerte aber die Wirkung der Genomverdoppelung nicht unmittelbar — sonst müßte beispielsweise der Meßwert des Genotyps  $ElEl++$  bei der angenommenen multiplikativen Allelwirkung etwa dem Quadrat des Meßwertes von  $El+$  entsprechen —, vielmehr scheint es so zu sein, daß nur ein Teil des vorhandenen Anthocyans durch die Genomverdoppelung vervielfacht wird. Einen Schätzwert dieses als  $G$  bezeichneten Anteils erhält man, indem man den Quotienten aus dem Quadrat des arithmetischen Mittels der diploiden Genotypen und dem arithmetischen Mittel der tetraploiden nach der folgenden Formel bildet:

$$G = \frac{(GV^2)^2}{(GV^4)} \quad (15)$$

wobei  $G$  der gesuchte Anteil,  $V$  die Wirkung eines Genoms und  $(GV^2)$  und  $(GV^4)$  die arithmetischen Mittelwerte der diploiden bzw. tetraploiden Genotypen sind.

Die vorliegenden Meßwerte, als Bruchteile oder Vielfache des von der Genomverdoppelung betroffenen Anteils  $G$  der Anthocyankonzentration ausgedrückt, sollten dann die exakte Berechnung der gesuchten Unbekannten ermöglichen.

Wird die Berechnung in der oben beschriebenen Weise durchgeführt, so sind zunächst die Meßwerte der auf die Einzelzelle bezogenen Anthocyankonzentration in die Ausgangsgleichung (5) einzusetzen:

$$\begin{array}{rcl} a = 29.4 \\ b = 43.8 \\ c = 67.8 \\ d = 132.4 \\ e = 166.4 \\ \hline f = 14.4 & S = 439,8, & x = 87,96 = (GV^4) \\ g = 27.0 \\ h = 105,8 \\ \hline & S = 147,2, & \bar{x} = 49,067 = (GV^2) \end{array}$$

Hieraus wird  $G$  nach Gl. (15) errechnet:

$$G = \frac{49,067^2}{87,96} = 27,3708,$$

die darauf bezogenen Meßwerte lauten:

$$\begin{array}{rcl} a = 1,074 & f = 0,526 \\ b = 1,600 & g = 0,986 \\ c = 2,477 & h = 3,865 \\ d = 4,837 \\ e = 6,079 \end{array}$$

Werden nun die Schätzwerte

$$\begin{array}{l} x_1 = 0,53 \\ y_1 = 1,34 \\ z_1 = 1,83 \end{array}$$

angenommen und zusammen mit den auf  $G$  bezogenen Meßwerten in die Gln. (8a—c) eingeführt, ergeben sich für die Funktionen und ihre ersten Ableitungen die folgenden Werte:

$$\begin{array}{l} F(x_1, y_1, z_1) = - 13,978651 \\ G(x_1, y_1, z_1) = + 134,500329 \\ H(x_1, y_1, z_1) = + 53,636872 \\ F_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 = 101,652525 \\ G_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 = 1490,661157 \\ H_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 = 198,625882 \end{array}$$

$$\begin{array}{l} F_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 = G_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 = 77,891973 \\ G_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 = H_y(x_1, y_1, z_1) \Delta y_1 = 595,792234 \\ H_x(x_1, y_1, z_1) \Delta x_1 = F_z(x_1, y_1, z_1) \Delta z_1 = 39,523138 \end{array}$$

$D$ ,  $D_x$ ,  $D_y$  und  $D_z$  erhält man aus den Gln. (11) bis (14), indem man die Funktionswerte und die ersten Ableitungen einsetzt und die Determinanten berechnet. Sind

$$\begin{vmatrix} a_1 & b_1 & c_1 \\ a_2 & b_2 & c_2 \\ a_3 & b_3 & c_3 \end{vmatrix}$$

die Elemente einer beliebigen Determinante dritten Grades, so ist ihr Wert

$$D = a_1 b_2 c_3 + b_1 c_2 a_3 + c_1 a_2 b_3 - a_3 b_2 c_1 - b_3 c_2 a_1 - c_3 a_2 b_1.$$

So berechnet ergeben sich die folgenden Werte für

$$\begin{array}{l} D = - 5851045,07 \\ D_x = + 1238478,74 \\ D_y = - 690652,70 \\ D_z = + 245205,99 \end{array}$$



aus denen

$$\begin{aligned}\Delta x &= -0,212 \\ \Delta y &= +0,118 \\ \Delta z &= -0,042\end{aligned}$$

errechnet wird, so daß die neuen Näherungswerte nunmehr lauten:

$$\begin{aligned}x_2 &= 0,74 \\ y_2 &= 1,22 \\ z_2 &= 1,87\end{aligned}$$

Die Iteration wird mit den neuen Näherungswerten solange fortgesetzt, bis die  $x$ -,  $y$ - und  $z$ -Werte mit genügender Genauigkeit bestimmt sind. Das ist hier etwa nach der dritten Näherung der Fall, bei der die Änderungen der Näherungswerte mit  $\Delta x = 0,001$ ,  $\Delta y = -0,004$  und  $\Delta z = -0,006$  nur noch unbedeutend sind.

Als Ergebnis der Berechnungen erhält man mit zunehmender Annäherung an die wahrscheinlichsten Werte:

Schätzwerte:	$x_1 = 0,53$	$y_1 = 1,34$	$z_1 = 1,83$
1. Näherung:	$x_2 = 0,74$	$y_2 = 1,22$	$z_2 = 1,87$
2. Näherung:	$x_3 = 0,746$	$y_3 = 1,191$	$z_3 = 1,831$
3. Näherung:	$x_4 = 0,7474$	$y_4 = 1,1861$	$z_4 = 1,8248$

Das bedeutet, daß der Faktor *El* eine ursprünglich vorhandene Anthocyanmenge in einfacher Dosis auf etwa 75% der Ausgangskonzentration reduziert, das Normalallel dagegen eine Erhöhung auf etwa 118% bedingt und die Verdoppelung des Genoms eine Steigerung auf das 1,82fache zur Folge hat. Das heißt mit anderen Worten, daß das *El*- und das Normalallel einander entgegengesetzte Wirkungen besitzen, *El* bedingt eine Minderung, + eine Steigerung der Anthocyankonzentration, so daß in heterozygoten Genotypen die Wirkung des einen Allels durch die des anderen zum Teil wieder aufgehoben wird.

Somit kann die vermutete Wechselwirkung zwischen den Allelen des *Eluta*-Locus auf rechnerischem Wege tatsächlich nachgewiesen und ihre Größenordnung bestimmt werden.

#### IV. Diskussion

Untersuchungen über die Gendosiswirkung können in sehr unterschiedlicher Weise ausgeführt werden. Ein Vergleich der bisher veröffentlichten Versuche lehrt, daß prinzipiell zwischen 2 Arten der Versuchsmethodik zu unterscheiden ist, die durch die Art, in der die Dosis des zu untersuchenden Faktors verändert wird, gekennzeichnet sind. Zwar ist die Unterscheidung der beiden verschiedenen Methoden nicht immer eindeutig möglich, doch lassen sich im wesentlichen Methoden, die sich der Vermehrung oder Verminderung mehr oder weniger großer Teile chromosomaler Substanz bedienen, von solchen unterscheiden, bei denen lediglich die Zahl der Allele innerhalb eines gegebenen Locus verändert wird.

Zur 1. Gruppe zählen die Versuche, die mit Hilfe von Defizienzen (z. B. *cubitus interruptus*), mit Hilfe von Duplikationen kleinster Chromosomensegmente (z. B. *Bar*) oder aber mit Hilfe der Vermehrung ganzer Chromosomen, also mit polysomen Organismen, durchgeführt werden.

Zur 2. Gruppe sind Vergleiche zwischen ♂♂ und ♀♀ Individuen mit geschlechtsgekoppelten Faktoren und Vergleiche zwischen Homo- und Heterozygoten polyploider Organismen zu rechnen, wobei im engeren Sinne nur Vergleiche innerhalb einer Polyploidiestufe zur 2. Gruppe zu zählen sind, während Vergleiche zwischen Genotypen verschiedenen Polyploidiegrades bereits einen Übergang zur ersten

bilden. Naturgemäß sind alle diese Methoden mit mehr oder minder großen Fehlerquellen behaftet, ein Vergleich zwischen den auf verschiedene Weise erhaltenen Ergebnissen ist wegen der Unterschiedlichkeit der Fehlerursachen nicht ohne weiteres möglich. Die Hauptschwierigkeit bei der Untersuchung der Dosiswirkung mit Hilfe chromosomaler Veränderungen liegt darin, daß der Gendosisseffekt durch mögliche Nebenwirkungen der chromosomalen Veränderungen, z. B. durch einen Stückausfall bedingte Änderungen oder durch einen nach Duplikationen oft zu beobachtenden Positionseffekt bzw. durch eine Störung der genetischen Balance bei Polysomen, überlagert und verfälscht wird. Eine sichere Methode, den „Störeffekt“ von der Dosiswirkung zu unterscheiden, gibt es nicht.

Besonders unzuverlässig sind Dosisversuche mit geschlechtsgekoppelten Faktoren, da sie durch geschlechtsbedingte Unterschiede beeinträchtigt werden können. Bei Versuchen mit polyploiden Organismen liegen die Fehlerursachen in den physiologischen Konsequenzen, die sich aus der Vervielfachung des Genoms ergeben, die zumindest dann zu berücksichtigen sind, wenn Vergleiche zwischen verschiedenen Polyploidiestufen vorgesehen sind. Jedoch haben die durch die Genomvervielfachung bedingten Änderungen gegenüber den Fehlerquellen anderer Methoden den Vorteil, daß hier die Ursache des störenden Einflusses in bestimmter Weise verändert werden kann. Damit ist aber auch die Möglichkeit gegeben, ihn in irgendeiner Weise zu erfassen und auszuschalten. Die sichersten Aussagen über die Wirkung der Gendosis sind daher am ehesten aus Untersuchungen an Genotypen verschiedenen Polyploidiegrades zu erwarten und, sofern nur Vergleiche zwischen verschiedenen Genotypen des gleichen Polyploidiegrades vorgenommen werden, gibt es für die Gültigkeit der Versuchsergebnisse keinerlei Einschränkungen. Erst der Vergleich der Genotypen verschiedener Polyploidiestufen zwingt dazu, die Wirkung der Genomverdoppelung von der Gendosiswirkung zu trennen.

Voraussetzung für ein derartiges Vorhaben ist eine weitgehende Konstanz des genetischen Hintergrundes, die bei dem vorliegenden Versuch durch die Wahl eines genetisch möglichst einheitlichen Materials angestrebt wurde. Diese Einheitlichkeit könnte unter dem Hinweis auf die Vernachlässigung der Wirkung des *delila*-Faktors, der die Färbung der Blütenkronröhre kontrolliert, als nicht ausreichend angesehen werden. Insbesondere deshalb, weil dieser Faktor ebenso wie der untersuchte *El*-Faktor ein Blütenfarbgen ist und somit sicherlich ebenfalls einen Einfluß auf die Meßwerte habe. Das trifft aber nur dann zu, wenn die Anthocyankonzentration der gesamten Blüte und nicht, wie im vorliegenden Fall, die einzelner Teile in der vom *del*-Faktor unbeeinflußten Ober- und Unterlippe der Blüten gemessen wird.

#### a) Vergleiche über ein Bezugssystem

Für die richtige Beurteilung des Dosiseffektes ist eine möglichst korrekte Schätzung der durch die Genomvervielfachung bedingten Wirkung von Bedeutung. Wir versuchten, diese Wirkung einerseits dadurch auszuschalten, daß wir die Meßwerte auf ein durchschnittliches Frischgewicht, Volumen der gemessenen Fläche bzw. einen durchschnittlichen Wassergehalt bezogen. Jedoch kann einem Einwand, daß ein solcher Vergleich wegen der Unsicherheit, ob damit der Einfluß der Genomverdoppelung tatsächlich erfaßt und weitgehend ausgeschaltet wurde,

nicht ohne weiteres zu richtigen und zuverlässigen Ergebnissen führen müsse, nicht widersprochen werden. Wie schon auf S. 64 dargestellt, gibt es in der Tat keine Möglichkeit zu überprüfen, ob die Korrektur der Meßwerte mit Hilfe des Frischgewichtes, bzw. des Wassergehaltes oder auf Grund des mittleren Zellvolumens die wahren Verhältnisse trifft. Vergleiche über ein Bezugssystem haben daher wegen ihrer geringen Zuverlässigkeit nur eine bedingte Aussagekraft und können nicht als Beweise, sondern bestenfalls als Hinweise gewertet werden.

Selbst wenn es aber gelänge, die Polyploidiewirkung korrekt zu schätzen und auszuschalten, so wäre doch der Schluß nicht ohne Einschränkung richtig, daß bei einer entgegengesetzten Wirkung der Allele diploide Simplex- und tetraploide Duplextypen den gleichen Meßwert ergeben müßten, während sich das Fehlen einer Wechselwirkung in der Identität der diploiden und tetraploiden Simplextypen äußerte. Diese Einschränkung beruht auf der bis dahin nicht berücksichtigten Art der Allelwirkung. Eine Übereinstimmung kann nämlich nur dann erwartet werden, wenn eine durchweg additive Allelwirkung vorliegt, während bei multiplikativer Wirkung zu fordern ist, daß die Meßwerte diploider Simplexpflanzen der Quadratwurzel aus den Meßwerten tetraploider Duplextypen entsprechen. Diese Forderung ist bei allen Vergleichen über die verschiedenen Bezugssysteme *nicht* erfüllt, vielmehr ist eine leidlich gute Übereinstimmung zwischen den korrigierten Meßwerten diploider Simplex- und tetraploider Duplexpflanzen festzustellen, die nur durch die Annahme einer additiven Allelwirkung zu erklären wäre. Dem steht jedoch die Nichtlinearität der Dosiseffektkurve entgegen, so daß als zweite mögliche Ursache für die Diskrepanz zwischen Erwartung und Beobachtung nur die Folgerung bleibt, daß die Korrektur der Meßwerte zur Ausschaltung des Polyploidieeffektes unvollständig war und somit noch nicht die wahren Verhältnisse wiedergegeben werden. Ein dritter möglicher Einwand, daß hier keine Wechselwirkung vorläge, entfällt durch den Hinweis auf die dann zu erwartende Ähnlichkeit der Meßwerte beider Simplextypen, die in keinem Fall gegeben ist.

Zusammenfassend ist also zu sagen, daß der Vergleich über Bezugssysteme nicht ausreicht, den Einfluß der Genomverdoppelung richtig zu schätzen und in ausreichendem Maß zu korrigieren. Das überrascht nicht, wenn die Vielzahl der möglichen Einflüsse auf die Merkmalsausprägung infolge der Änderung der Genomzahl berücksichtigt wird, es ist aber zugleich ein Hinweis auf die Gefahr übertriebener Erwartungen von der Wirksamkeit solcher Korrekturmethode.

#### *b) Schätzung der Allelvalenz*

Eine zweite Möglichkeit, die Bestimmung der Gendosis vom Einfluß der Genomverdoppelung zu befreien, bietet sich in der rechnerischen Ermittlung aller Unbekannten, die die Merkmale ebenfalls beeinflussen. Wie aus dem dargestellten Rechengang zu ersehen ist, ist es mit Hilfe des erläuterten Verfahrens tatsächlich möglich, nicht nur die interallele Wechselwirkung als Tatsache nachzuweisen, sondern auch die Größenordnung der Wirkungen der einzelnen Allele ebenso wie die des Polyploidieeffektes zu bestimmen. Danach beträgt der Wert des Faktors  $El = 0,74$ , des Normalallels  $= 1,18$  und des Polyploidieeffektes  $= 1,82$ . Die mit Hilfe dieser Allelvalenzen berechneten theoretischen Dosiseffektkurven sind, bezogen auf den Genotyp  $++++ = 100$ , in der Abb. 1c ohne, und in



der Abb. 1b mit Ausschaltung der Polyploidiewirkung als punktierte Linien eingetragen. Wie aus der Abb. 1b zu entnehmen ist, ist hier die Abweichung der Meßwerte diploider Genotypen von ihren theoretischen Werten größer als die entsprechende in der Abb. 1c, was als zusätzlicher Hinweis auf die unvollständige Korrektur der Meßwerte mit Hilfe einer Bezugsgröße anzusehen ist. Für die auch in Abb. 1c zu beobachtende noch relativ große Abweichung der Meßwerte diploider Genotypen von ihren theoretischen Werten gibt es zunächst keine Erklärung. Möglicherweise ist aber hierin ein Hinweis auf eine Veränderung der Allelenvalenz in Abhängigkeit von der Polyploidiestufe enthalten.

Gegen die Art der Berechnung solcher Werte und insbesondere gegen die Umformung der Meßwerte mit Hilfe des Faktors  $G$  [Formel (15)], bevor sie in die Rechnung eingeführt werden, bestanden ursprünglich Bedenken, da dadurch möglicherweise eine in Wirklichkeit nicht vorhandene Wechselwirkung vorgetäuscht werden könnte. Diese Bedenken sind aber leicht zu zerstreuen, wenn die Rechnung mit den unveränderten Meßwerten durchgeführt wird. Nach der zweiten Annäherung lauten die Schätzwerte  $x_3 = 0,716$ ,  $y_3 = 1,097$  und  $z_3 = 11,038$ , aus denen eindeutig hervorgeht, daß hier zwar auch eine interallele Wechselwirkung nachgewiesen werden kann, jedoch gleichzeitig die Wirkung der Genomverdoppelung mit einem Wert von  $z = 11,038$  ganz erheblich überschätzt wird.

Eine Umformung der Meßwerte in der beschriebenen Weise ist daher nicht nur zulässig, sondern notwendig.

Ferner könnte eingewandt werden, daß die Verwendung einer einzigen Unbekannten ( $z = v^2$ ) für die Gesamtheit des genetischen Hintergrundes wegen der Mannigfaltigkeit der möglichen Wirkungen in ihm enthaltener Faktoren ungerechtfertigt sei. Solange aber der genetische Hintergrund weitgehend homozygot ist, und bestimmte Faktoren nicht beliebig variiert werden können, besteht weder die Möglichkeit noch die Notwendigkeit weitere Unbekannte in die Rechnung einzuführen. Der Schätzwert  $z$  repräsentiert die Summe oder das Produkt der Wirkungen aller nicht beliebig variierbarer Faktoren, deren Dosis nur in der Gesamtheit des genetischen Hintergrundes verändert werden kann.

### c) Interpretation der Ergebnisse

Die Schätzung des Dosiseffektes in der beschriebenen Weise erscheint als die derzeit genaueste und zuverlässigste Methode, so daß die so gewonnenen Ergebnisse als sehr wahrscheinlich zu betrachten sind. Damit sind wir in der Lage, nachzuweisen, daß die unvollständige Dominanz des *Eluta*-Faktors von *Antirrhinum majus* das Ergebnis einer Wechselwirkung zwischen den Allelen *El* und  $+$ , einer interallelen Interferenz, ist. BÖHME und SCHÜTTE, die den gleichen Faktor mit der gleichen Fragestellung untersuchen, erwähnen in einer kurzen Mitteilung (1956) die dosisproportionale Wirkung des „fördernden Komplexes“ — *Niv el Del* — nach einem Vergleich diploider Simplex- und tetraploider Duplextypen, sowie die Hemmwirkung der Allele — *niv El del* — auf Grund des Vergleiches diploider und tetraploider Elterformen mit ihrem triploiden Bastard. Die von den Verfassern noch mit Vorsicht geäußerten Annahmen stimmen mit den Ergebnissen unserer Versuche überein.

Es liegt nun auf der Hand zu fragen, ob jeder Fall einer unvollständigen Dominanz durch Allele bedingt wird, deren Wirkung einander entgegengesetzt

ist, oder mit anderen Worten, ob die hier erhaltenen Ergebnisse als die einzig mögliche Ursache für das Zustandekommen unvollständiger Dominanz, d.h. als allgemeingültig anzusehen sind.

Einen Hinweis, daß das Verhalten des *El*-Faktors keinen Sonderfall darstellt, erhalten wir durch eine Beobachtung von CORRENS (1918) an Bastarden aus der Kreuzung *Urtica pilulifera* (tief gesägt-gezähnte Blätter  $\times$  *Urtica Dodartii* (schwach gezähnt). Das Allel für „tief gesägt“ dominiert nicht vollständig über „ungesägt“. CORRENS beobachtete nun an den ersten Laubblättern der Bastarde eine anfangs ungesägte Blattspitze, die erst später gesägt wurde. Das heißt, daß hier zunächst eine Prävalenz des rezessiven Allels und erst später eine des dominierenden auftritt. Dieses Phänomen kann ebenfalls als Wechselwirkung einander entgegengesetzt wirkender Allele gedeutet werden, die dadurch offenbar wird, daß sich beide Allele nicht zum gleichen Zeitpunkt zu manifestieren beginnen.

Ein weiteres Beispiel bilden die schon in der Einleitung zitierten Versuche STERNS mit den Allelen des *cubitus interruptus*-Locus der *Drosophila*, die GOLDSCHMIDT, loco cit., in ausführlicher Weise diskutiert hat.

Im Gegensatz zu STERN sind wir an Hand unserer Versuche nicht in der Lage nachzuweisen, daß das einzelne Allel ohne die Gegenwart eines anderen eine u. U. andersartige Wirkung besitzt als mit ihm zusammen. Das ist jedoch auch nicht das entscheidende Kriterium der interallelen Interferenz, sondern vielmehr die von STERN mehrfach beobachtete Tatsache, daß zwischen den Allelen eines Locus oder zwischen ihren Produkten eine Interaktion auftritt, die die Wirkung eines bestimmten Allels in spezifischer Weise abändert. Auf welcher Basis das geschieht, ist bei unserem Versuch nicht erkennbar. Aber selbst wenn es gelänge, die stoffliche Grundlage der Allelwirkung nachzuweisen, so bliebe die Tatsache der wechselseitigen Hemmung oder, allgemeiner gesagt, des wechselseitigen Einflusses, der Interferenz nach STERN, dennoch bestehen. In diesem Zusammenhang erscheint auch GOLDSCHMIDTS Ablehnung der Sternschen Deutung, unter dem Hinweis darauf, daß sie ja möglicherweise durch eine unterschiedliche biochemische oder physiologische Wirkung der Allele zu erklären sei, nicht recht verständlich.

Ein weiteres klassisches Beispiel für die Dosiswirkung eines unvollständig dominanten Faktors verdanken wir F. v. WETTSTEIN (1924), der die Veränderung der Deckelform der Sporogonkapseln der *Funaria hygrometrica* untersuchte und beschrieb. Ein oberflächlicher Vergleich der von ihm mitgeteilten Zahlen, die das Verhältnis Deckeldurchmesser/Deckelhöhe wiedergeben, läßt auf den ersten Blick die Annahme einer wechselseitigen Hemmung des *B*- und *b*-Allels gerechtfertigt erscheinen:

<i>BBBB</i> = 5,29	<i>BBB</i> = 4,52	<i>BB</i> = 4,80
<i>BBBb</i> = 5,13	<i>BBb</i> = 3,97	<i>Bb</i> = 2,99
<i>Bbb</i> = 3,04 <sup>1</sup>	<i>Bbb</i> = 2,91	<i>bb</i> = 2,63
<i>Bbbb</i> = 2,59	<i>bbb</i> = 2,71	
<i>bbbb</i> = 2,68		

Werden diese Werte jedoch in der oben beschriebenen Weise auf einen durchschnittlichen Wert von  $G = 3,178$  (15) bezogen und in die für die Aufnahme der

<sup>1</sup> Kreuzung *BB*  $\times$  *bb*, Kreuzung *Bb*  $\times$  *Bb* = 2,75.

Meßwerte Triploider entsprechend erweiterten Ausgangsgleichungen (8a—c) eingesetzt, so werden nach der zweiten Annäherung die folgenden Schätzwerte erhalten:

$$\begin{array}{lll} x_1 = 1,2 & y_1 = 0,8 & v_1 = 1,0 \\ x_2 = 1,576 & y_2 = 1,370 & v_2 = 0,763 \\ x_3 = 1,563 & y_3 = 1,298 & v_3 = 0,740 \end{array}$$

Dieses Ergebnis ist außerordentlich interessant, weil es zeigt, daß unvollständige Dominanz auch dann entstehen kann, wenn beide Allele in der gleichen Richtung wirken. Voraussetzung ist lediglich, daß die Valenz beider Allele ungleich groß ist.

Die durch die Genomvermehrung bedingte Verringerung der Quotienten Durchmesser/Höhe wird durch die gleichsinnig wirkenden Allele nicht nur kompensiert, sondern in eine Steigerung verwandelt.

Dieses Ergebnis dürfte auch die letzten Zweifel an der Gültigkeit der Rechenmethoden beseitigen, die möglicherweise auf dem Vorurteil beruhten, daß in der angegebenen Weise stets nur einander entgegengesetzte Wirkungen der Allele „errechnet“ werden könnten.

Somit ist auch die Frage zu beantworten, von der wir ausgegangen waren: das Charakteristikum der Entstehung unvollständiger Dominanz ist offenbar nicht die wechselseitige Hemmung der Allele, sondern vielmehr die Tatsache, daß beide Allele eine *eigene* Wirkung besitzen müssen, die sowohl einander entgegengesetzt als auch gleichsinnig sein kann, und daß die Valenz beider Allele weder einander gleich, noch bei multiplikativer Allelwirkung gleich 1 sein kann.

CATCHESIDE postulierte (1955), daß es zwischen den Allelen eines Locus die gleichen Interaktionen geben müsse, wie sie zwischen den Allelen verschiedener Loci bekannt sind. Wendet man die zur Charakterisierung der Wirkungsweise nichtalleler Gene übliche Terminologie (KAPPERT 1953) auch auf die Beziehungen zwischen allelen Genen an, so ist die unvollständige Dominanz durch das Vorkommen *selbständig* wirkender Allele mit gleichsinniger oder einander entgegengesetzter Wirkung zu charakterisieren.

Im übertragenen Sinne wäre dann aus dieser Hypothese zu folgern, daß es auch unselbständig wirkende Allele geben muß und es ist sehr wahrscheinlich (SEYFFERT, 1956), daß diese Art der Allelwirkung zum Phänomen der Superdominanz führt. Es wäre wünschenswert, weitere Beispiele unvollständiger Dominanz in entsprechender oder ähnlicher Weise zu analysieren, um diese Hypothese durch neues Tatsachenmaterial überprüfen und gegebenenfalls erhärten zu können.

### Zusammenfassung

Die Untersuchungen über die Gendosiswirkung wurden mit diploiden und experimentell hergestellten tetraploiden *Antirrhinum majus* durchgeführt. An Bastarden der Kreuzung *Sippe 50*  $\times$  *Standard*, die sich im wesentlichen nur durch den unvollständig dominanten Hemmungsfaktor *El* und durch den Faktor *del* unterscheiden, wurde die durch die Dosiswirkung des *El*-Faktors bedingte Änderung des Anthocyangehaltes in den Lippen der Blüten kolorimetrisch gemessen. Um Vergleiche zwischen verschiedenen diploiden und tetraploiden Genotypen zu ermöglichen, wurde einerseits versucht, den Einfluß der Genomverdoppelung durch Korrektur der Meßwerte mit Hilfe des von flächengleichen Teilen



gemessenen Frischgewichtes, des Wassergehaltes und des durchschnittlichen Zellvolumens auszuschalten.

Es zeigte sich jedoch, daß Vergleiche über solche Bezugssysteme wenig zuverlässig sind und sichere und detaillierte Aussagen nicht erlauben.

Eine zweite Möglichkeit ist durch die rechnerische Ermittlung des Polyploidieeffektes und der Valenz der Allele gegeben. Hierzu wurden mit Hilfe der Methode der kleinsten Quadrate Formeln entwickelt, die mit Hilfe einer Iteration gelöst wurden.

Es zeigte sich, daß zwischen den Allelen *El* und + eine Wechselwirkung besteht, die nach STERN als interallele Interferenz bezeichnet werden kann. Der Faktor *El* reduziert in einfacher Dosis die durch andere Gene gebildete Anthocyanmenge auf etwa 75%, während das Normalallel der Reduktion durch eine Erhöhung auf etwa 118% entgegenwirkt.

Auf Grund des Vergleiches mit anderen Versuchsergebnissen und der rechnerischen Auswertung eines Dosisversuches F. v. WETTSTEINS glauben wir annehmen zu dürfen, daß das Charakteristikum der unvollständigen Dominanz das Vorhandensein gleichsinnig oder einander entgegengesetzt wirkender, vor allem aber *selbständig* wirkender Allele ist.

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. KAPPERT für anregende Diskussionen und sein stetes Interesse am Fortgang der Arbeit, Frl. stud. rer. nat. BABETTE BARTHELMESS und Frl. SIGRID CLASSEN für ihre Hilfe bei der Betreuung und Auswertung der Versuche, sowie der „Deutschen Forschungsgemeinschaft“, die die Durchführung der Untersuchungen ermöglichte.

### Literatur

- BÖHME, H., u. H. R. SCHÜTTE: Genetisch-biochemische Untersuchungen über Blütenfarbstoffe an Mutanten von *Antirrhinum majus* (L.) I. Mittl. Biol. Zbl. **75**, 597—611 (1956). — BRIX, K.: Quantitative Untersuchungen an chlorophylldefekten und normalen diploiden und tetraploiden Pflanzen. Züchter **25**, 246—252 (1955). — BRIX, K., u. F. QUADT: Experimentell genetische Untersuchungen über die Natur einer natürlichen Polyploiden. Z. Pflanzenzüchtg **32**, 407—420 (1953). — CATCHESIDE, D. G.: The physiology of gene action. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 1—18. 1955. — CORRENS, C.: Bastarde zwischen Maisrassen. Stuttgart 1901. — Zur Kenntnis einfach mendelnder Bastarde. I. Die Unterscheidung der *pilulifera*-Homozygoten und der Heterozygoten des Bastardes *Urtica pilulifera* × *Dodartii*. Sitzgsber. preuß. Akad. Wiss. **11**, 221—268 (1918). — GOLDSCHMIDT, R.: Theoretical genetics. Berkeley 1955. — JOHANNSEN, W.: Elemente der exakten Erblchkeitslehre. Jena 1926. — KAPPERT, H.: Die vererbungswissenschaftlichen Grundlagen der Züchtung. Berlin 1953. — KUCKUCK, H., u. R. SCHICK: Die Erbfaktoren bei *Antirrhinum majus* und ihre Bezeichnung. Z. Vererbungslehre **56**, 51—83 (1930). — LAWRENCE, W. J. C., and R. SCOTT-MONCRIEFF: The genetics and biochemistry of flower colour in *Dahlia*: A new theory of specific pigmentation. J. Genet. **30**, 155—226 (1935). — MELCHERS, G.: Die Ursache der besseren Anpassungsfähigkeit der Polyploiden. Z. Naturforsch. **1**, 160—165 (1946). — MULLER, H. J.: Further studies on the nature and causes of gene mutations. Ref. Proc. 6. Internat. Congr. Genetics **1**, 213—225 (1932). — RHOADES, M. M.: The genetic control of mutability in maize. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **9**, 138—144 (1941). — SAGER, R.: On the mutability of the waxy locus in maize. Genetics **36**, 510—540 (1951). — SCHICK, R., u. H. STUBBE: Die Gene von *Antirrhinum majus*. III. Z. Vererbungslehre **66**, 425—462 (1934). — SEYFFERT, W.: Über die Wirkung von Blütenfarbgene bei *Cyclamen*. Z. Vererbungslehre **87**, 311—334 (1955). — Vorläufige Mitteilung über Untersuchungen zur Gendosiswirkung. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 435—440 (1956). — SINNER, G.: Hütte, I. Berlin 1949. — STERN, C.: Genic action as studied by means of the effects of different doses and combinations of alleles. Genetics **28**, 441—475 (1943). — The effects of change in quantity, combination and position of genes. Ref. Science (Lancaster, Pa.) **108**, 615—621

(1948). — STERN, C., R. H. MacKNIGHT and M. KODANI: The phenotypes of homozygotes and hemizygotes of position alleles and of heterozygotes between alleles in normal and translocated positions. *Genetics* **31**, 598—619 (1946). — STRAUB, J.: Quantitative und qualitative Verschiedenheiten innerhalb von polyploiden Pflanzenreihen. *Biol. Zbl.* **60**, 659—669 (1940). — STÜBBE, H.: Die Gene von *Antirrhinum majus*. IV. *Z. Vererbungslehre* **79**, 401—443 (1941). — WETTSTEIN, F. v.: Morphologie und Physiologie des Formwechsels der Moose auf genetischer Grundlage. I. *Z. Vererbungslehre* **33**, 1—236 (1924). — WILLERS, F. A.: Methoden der praktischen Analysis. Berlin 1950. — WRICKE, G.: Ein Fall von Superdominanz bei einer experimentell hergestellten Autotetraploiden von *Arabidopsis thaliana*. *Z. Vererbungslehre* **87**, 47—64 (1955). — YULE, G. U., and M. G. KENDALL: An introduction to the theory of statistics. London 1953.

Dr. WILHELM SEYFFERT, Institut für Vererbungs- und Züchtungsforschung,  
Berlin-Dahlem, Albrecht Thaer-Weg 6

---

Aus dem Zoologisch-vergleichend-anatomischen Institut der Universität Zürich

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE WIRKUNG DER LETALFAKTOREN  
*LETAL-BLUTER* (*bl*) UND *LETAL-POLYMORPH* (*lpm*)  
VON *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Von

GEORG BENZ

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Dezember 1956)

### I. Einleitung

„Letalfaktoren sind zu einem bevorzugten Objekt der biologischen Forschung geworden. Da sie mit einem überwiegenden Anteil am Gesamtbestand der bei einem Organismus auftretenden Mutationen beteiligt sind, liefern sie wesentliches Material für die Begründung einer Mutationslehre und Gentheorie. Sodann zeigen die mendelegenden Letalfaktoren, in welchem allgemeinen Ausmaße die fundamentalen Vorgänge der Entwicklung von der chromosomalen Erbsubstanz abhängig sind. Mit jeder neu auftretenden Letalmutation wird überdies ein höchst spezifisches Experiment eingeleitet, das Einsichten vermittelt in die besonderen funktionellen Beziehungen zwischen individualisierten Mutationszuständen und merkmalsbildenden Prozessen“ (zit. aus E. HADORN 1955).

In der vorliegenden Arbeit wird über Untersuchungen an zwei rezessiven Letalmutanten von *Drosophila melanogaster* berichtet. Zum Verständnis der Wirkungsweise eines Letalfaktors muß zunächst seine effektive Letalphase (HADORN 1955) bestimmt werden. Sodann benötigt man eine möglichst genaue Bestandsaufnahme der sichtbaren Phäne, die nach einer phänokritischen Phase (HAECKER 1918) auftreten und die in ihrer Gesamtheit das mehr oder weniger komplizierte pleiotrope Schädigungsmuster (HADORN 1948) des zu untersuchenden Erbfaktors konstituieren. Da morphologische Veränderungen einer Mutante meist Auswirkungen eines veränderten Stoffwechsels sind, wurde für die beiden Letalfaktoren mit papierchromatographischen Methoden versucht, allfällige biochemische Abnormitäten festzustellen.

Weitere Hilfsmittel zur Analyse einer Mutationswirkung sind Phänokopieexperimente (GOLDSCHMIDT 1935). Oft ist es möglich, durch einen Eingriff in den normalen Organismus gleiche Phäne, wie sie ein mutierter Erbfaktor bewirkt, hervorzubringen. Umgekehrt sollten durch geeignete Therapie Träger von Letalfaktoren lebensfähig gemacht werden können: d. h. der Normaltypus wird phänokopiert. Beide Arbeitsmethoden sind im Verlaufe dieser Untersuchungen angewendet worden. Schließlich wurde auch festgestellt, wieweit beide Letalfaktoren in ihrer Manifestation durch genetische und äußere Faktoren beeinflußt werden.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. E. HADORN, möchte ich für die Anregung zu dieser Arbeit sowie für seine Unterstützung und seine wertvollen Ratschläge während den Untersuchungen meinen herzlichsten Dank aussprechen. Frau Dr. E. STUMM-ZOLLINGER, Zürich und den Herren Prof. Dr. H. GLOOR, Leiden und P.-D. Dr. P. S. CHEN, Zürich, danke ich bestens für wertvolle Auskünfte.



## II. Material und Methoden

### 1. Zucht

Da beide Letalfaktoren (*letal-bluter* = *lbl* und *letal-polymorph* = *lpm*) im 2. Chromosom lokalisiert sind, können sie in balancierten Systemen über der *Curly*-Inversion gezüchtet werden (*lbl/Cy* bzw. *lpm/Cy*). Die für *Cy* homozygoten Tiere sterben embryonal oder frühlarval ab, während die zu untersuchenden Letalen meist später sterben. Aus den Zuchten erhält man also immer ein Gemisch von Letalen und von vitalen *l/Cy*-Fliegen, im Verhältnis 1:2. Allfällige Durchbrenner (HADORN 1945), d. h. Fliegen mit dem Genotypus *l/l* können an den geraden Flügeln erkannt werden (*l/Cy*-Fliegen haben gekrümmte Flügel). Das Chromosom, das *lpm* trägt, ist zudem mit den Genen *cn* und *bw* markiert worden. Die Zucht-Tiere haben also den Genotypus *lpm cn bw/Cy cn +*. In diesem Stamme können bereits die *lpm*-Larven von ihren normalen Geschwistern unterschieden werden, weil beim Genotyp *lpm cn bw/lpm cn bw* die Malpighischen Gefäße farblos sind (normal = gelb). Ebenso müssen allfällige Durchbrenner durch weiße Augen auffallen. In der Regel wurde bei  $25 \pm 1^\circ \text{C}$  gezüchtet. Andere Zuchttemperaturen werden in dieser Arbeit besonders vermerkt.

### 2. Histologische Untersuchungen

Für histologische Untersuchungen wurden von *lbl*-Tieren 10  $\mu$ , von *lpm*-Tieren meist 6  $\mu$  dicke Schnitte hergestellt. Ganze Puppen oder leere Puparien wurden in Bouin fixiert und über 10%ige Collodiumlösung und Chloroform in Paraffin eingebettet. Zur Färbung des Chitins wurden die Schnitte nach der Methode von HOTCHKISS behandelt (GLICK 1949). Weiter wurde mit Hämalaun-Eosin und Hämalaun-Lichtgrün gefärbt.

Larven wurden in 80° heißem Bouin fixiert und über Methylbenzoat, 0,5-, 1- und 2%iges Celloidin (in Methylbenzoat) direkt in Paraffin eingebettet. Färbungen: Hämalaun-Orange G oder Hämalaun-Eosin. Alle Messungen wurden mit dem Okularmikrometer ausgeführt. Histologische Zeichnungen von Schnittpräparaten wurden mit dem Projektionszeichnungsapparat angefertigt; zum Teil sind auch Photographien verwendet worden. Hämolymphe-Ausstriche wurden nach PAPPENHEIM mit der kombinierten May-Giemsa-Methode gefärbt.

### 3. Chromatographie der freien Eiweißbausteine

Die zu untersuchenden Tiere wurden gewaschen und dann in 80%igem Methylalkohol zerrieben. Für je 10 Tiere (beim 2. Larvenstadium = 30 Tiere) wurde 0,1 cm<sup>3</sup> Methanol gebraucht. Die unlöslichen Bestandteile (Proteine usw.) konnten zentrifugiert werden. Vom Überstehenden wurde je 0,1 cm<sup>3</sup> auf einen Bogen Whatmanfilterpapier Nr. 1 (Format 28 × 46 cm) aufgetragen. Die Entwicklung der Chromatogramme erfolgte zweidimensional, aufsteigend mit Propanol- (70%) Wasser und absteigend mit wassergesättigtem Phenol bei Zimmertemperatur. Zur quantitativen Bestimmung der ninhydrinpositiven Substanzen wurden die Chromatogramme nach der Methode von BODE, HÜBNER, BRÜCKNER und HOERES (1952) behandelt (über Einzelheiten s. BENZ 1955). Die Methode beruht auf der Eigenschaft des Ninhydrin-Farbkomplexes (blau-violett) mit Kupferionen in schwach saurer Lösung einen leuchtend roten, mit Methanol leicht eluierbaren und recht beständigen Komplex zu bilden. Dieser Kupferkomplex hat sein Absorptionsmaximum bei 510 m $\mu$ . Bei dieser Wellenlänge gemessene Extinktionswerte zeigen eine lineare Abhängigkeit von der Quantität der Aminosäuren.

### 4. Hydrolyse von Puparien

Je 30 leere Puparien wurden mit je 0,1 cm<sup>3</sup> 6N · HCl in einem Glasröhrchen eingeschlossen und bei 105° während 48 Std hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde dann bei Unterdruck (Wasserstrahlpumpe) und 40–50° C eingedampft. Durch den Behälter mit dem trockenen Rückstand wurde hierauf bei 100° C während 2 Std Luft durchgesogen. Nach dieser Behandlung wurde der Rückstand in Wasser (bidest.) aufgenommen und mit 1/10N · NaOH auf ein p<sub>H</sub> von 6,5–6,8 gebracht.

### 5. Chromatographie der Puparienhydrolysate

Die Entwicklung der Chromatogramme von Puparienhydrolysaten verlief bis zur Bildung des Ninhydrinkomplexes gleich wie bei den Chromatogrammen der freien Eiweißbausteine.

Hingegen wurde der rote Kupferkomplex dann nicht auf dem Papier durch Besprühen mit Kupferlösung erzeugt, sondern die blauvioletten Flecken der Aminosäuren und Peptide wurden ausgeschnitten und jeder Flecken einzeln in ein Reagenzglas verbracht. In die Reagenzgläser wurde aus der Bürette je 5 cm<sup>3</sup> Entwicklerlösung gegeben. Diese Lösung besteht aus 500 cm<sup>3</sup> reinem Methanol + 2 cm<sup>3</sup> gesättigter, wäßriger Kupfernitratlösung + 0,3 cm<sup>3</sup> 10%iger Salpetersäure. Auf diese Weise entsteht der methanollösliche Kupferkomplex im Glas, wo er auch direkt in Lösung geht. Es wurde 2 Std eluiert. Die Extinktionskoeffizienten wurden, wie bei den übrigen Chromatogrammen, mit dem Beckman-Spektrophotometer (Modell DU) gemessen.

### III. Der Faktor *letal-bluter* (*lbl*)

#### 1. Herkunft und Lokalisation

Die Mutation *letal-bluter* (*lbl*) trat im Februar 1950 in einem Männchen unseres Berlin-Inzucht-Stammes nach Röntgenbestrahlung auf (KÄFER 1952). Der rezessive Faktor liegt im linken Schenkel des 2. Chromosoms. Er wurde mit Hilfe der dominanten Gene *Bristle* (*Bl*, 2—54,8) und *Lobe 2* (*L<sup>2</sup>*, 2—72,0) lokalisiert. Die Crossingoverwerte zwischen den Faktoren zeigen, daß *lbl* etwa 11 Morgan-Einheiten links von *Bl* liegt: Locus 43,8 ± (BENZ 1953).

#### 2. Beschreibung der Mutante

a) Das sichtbare Schädigungsmuster. Die für den Faktor *lbl* homozygoten Tiere entwickeln sich scheinbar normal bis zur schlüpfreifen Puppe. Nachdem das *lbl*-Tier die feine Puppenhaut gesprengt hat, versucht es, den Deckel des Pupariums zu öffnen. Dies gelingt ihm aber nicht. Nach wiederholten Schlüpfversuchen tritt meist in der Gegend des vorderen, seitlichen Thoraxrandes, oft aber auch in der Gegend des „Halses“, der Stirnblase oder am Abdomen Hämolymphe aus, und das Tier stirbt. Aus diesem Grunde wurde die Mutante *letal-bluter* genannt (BENZ 1953). Der Tod der *lbl*-Tiere tritt streng phasenspezifisch ein. Die ausgetretene Hämolymphe verfärbt sich nach einiger Zeit braun und wird zuletzt ganz schwarz. Die letalen Puppen fallen durch diese Färbung sofort auf (Abb. 1).

b) Die mikroskopischen Phäne. Von normalen und letalen, schlüpfreifen Puppen wurden Schnittserien hergestellt und histologisch untersucht. In diesen Präparaten ließen sich keinerlei morphologische Unterschiede zwischen normalen und letalen schlüpfreifen Fliegen feststellen. Dagegen konnte beobachtet werden, daß die *lbl*-Puparien dickwandiger sind als Normalpuparien. In Abb. 2 sind die Dickenverhältnisse für Puparien von *lbl/Cy*- (normal) und *lbl/lbl*-Tiere dargestellt. Vergleichende Messungen an Puparien eines Wildstammes (Berlin-Inzucht) zeigten, daß sich *lbl/Cy*-Puparien nicht von den Puparien des Wildstammes unterscheiden lassen. Aus der Darstellung ist ersichtlich, daß sich die Mittelwerte für *lbl/Cy*- und *lbl/lbl*-Puparien nur wenig überschneiden. Bei den untersuchten *lbl/lbl*-Tieren handelte es sich um sog. künstliche Durchbrenner (S. 83). Da sich unter diesen auch etwa 16% gewöhnliche Durchbrenner befanden, ist diese Überschneidung sogar zu erwarten. Das gleiche gilt auch für die Abb. 3.

Bei den Schnittserien durch Puppen (quer) wurden vor allem die Deckelverschlüsse genau kontrolliert und ihre Dicke gemessen. Wie die Skizze in Abb. 3 oben rechts zeigt, verlaufen die Tracheenstämme (T) im Puparium von den Vorderstigma bis etwa in die Hälfte des Deckels an dessen Innenfläche entlang und

wenden sich dann ins Innere des Pupariums. Zur Messung der Verschußdicke wurde jeweils der Schnitt gewählt, auf dem die Tracheenstämme eben noch mit dem Deckel in Verbindung sind. Die Resultate der Messungen sind in Abb. 3 dargestellt. Die mittlere Dicke der Deckelverschlüsse bei Normalpuparien beträgt  $12,9 \pm 0,6 \mu$ , diejenige der *lbl*-Puparien aber  $24,0 \pm 0,8 \mu$ .

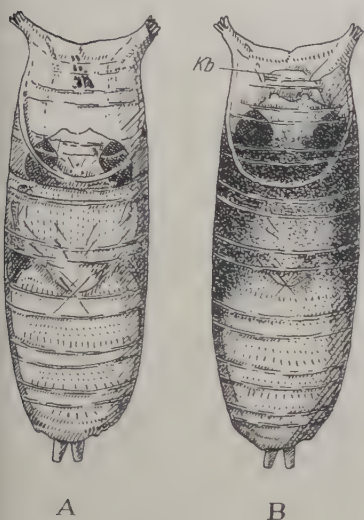


Abb. 1

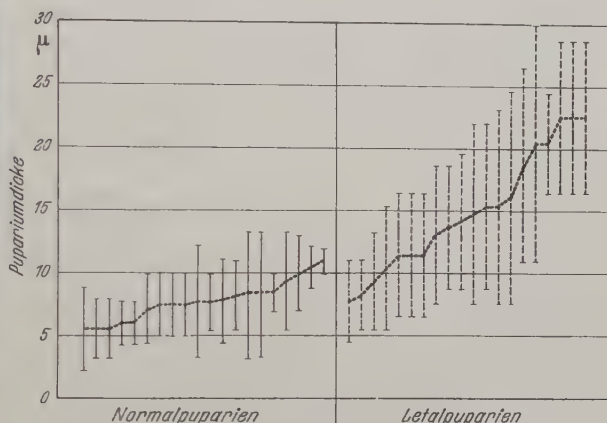


Abb. 2

Abb. 1 A u. B. Normale- (A) und *lbl*-Puppe (B). Kb Kopfblase

Abb. 2. Graphische Darstellung der Pupariumdicke für Normalpuparien und *lbl*-Puparien. Die dickste und die dünnste Stelle für je 20 Puparien wurden jeweils auf dem 1. Querschnitt hinter dem Pupariumsdeckel gemessen. Die beiden Werte sind bei den  $+$ -Puparien durch eine ausgezogene Senkrechte, bei den *lbl*-Puparien durch eine gestrichelte Senkrechte verbunden. Die arithmetischen Mittel zwischen der dicksten und der dünnsten Stelle der einzelnen Puparien sind durch eine punktierte Linie verbunden

Die Puparien bestehen aus einer äußeren, mit Hotchkiss rot gefärbten Chitinschicht und einer inneren (im Präparat lichtgrün gefärbten) Proteinschicht. Betrachtet man solche Schnitte durch das Mikroskop, so scheint bei *lbl*-Puparien nur die Proteinschicht dicker zu sein als in Normalpuparien. Dieser Befund konnte auch durch Wägungen von normalen und letalen Vorpuppen und deren Chitinanteil bestätigt werden. Mit 10%iger Kalilauge ihres Eiweißanteils entledigte Puparien zeigten für beide Genotypen gleiches Gewicht, d. h. gleich viel Chitin.

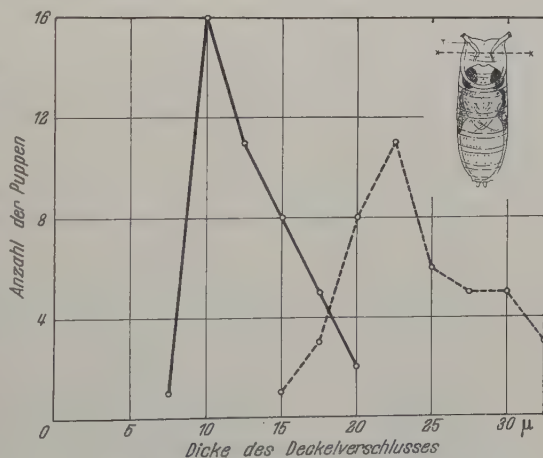


Abb. 3. Dicke der Deckelverschlüsse von *lbl*- (---) und von  $+$ -Puparien (—). Abszisse = Dicke in Mikron; Ordinate = Anzahl der Fälle. Die Skizze oben rechts zeigt die Lage des Querschnitts (x-x), auf dem die Dicke des Verschlusses gemessen wurde. T = Tracheenstamm

c) Die chemische Zusammensetzung der Puparien. Wir haben festgestellt, daß bei *lbl*-Tieren eine allgemeine Verdickung des Pupariums eintritt. Es stellt



sich nun die Frage, ob die Puparien der *lbl*-Tiere außer der verdickten Proteinschicht auch Unterschiede in der chemischen Zusammensetzung dieser Schicht zeigen. Die chromatographisch, quantitativ analysierten Puparienhydrolysate von *lbl/lbl*- und *+/+*-Tieren weisen nur geringe Unterschiede auf. Die Hydrolysate enthalten die in Tabelle 1 aufgeführten Substanzen. Der Gesamtwert der ninhydrinpositiven Substanzen aus *lbl*-Hydrolysaten ist, wie erwartet, etwas höher als derjenige aus *+*-Puparien. Der Unterschied ließ sich aber wegen der großen Streuung der Einzelwerte statistisch nicht sichern.

Werden die einzelnen Differenzen ( $d$ ) der Mittelwerte ( $M$ ) nach der Formel [1]:

$$w = \frac{1}{s^2 + s^2},$$

gewichtet ( $w$  = Gewicht der Abweichung,  $s$  = Streuung), so erhält man nach der Formel [2]:

$$\bar{d}_w = \frac{S dw}{S w}$$

eine mittlere gewichtete Differenz ( $\bar{d}_w$ ) von 5,356 zwischen *+/+*- und *lbl/lbl*-Hydrolysaten ( $S$  = Summe).

Da es sich bei den Werten der Tabelle 1 um Extinktionswerte, nicht aber um Gewichtseinheiten (z. B. Gamma), die allerdings in linearer Beziehung zu den Extinktionswerten stehen, handelt, wurden alle Mittelwerte und deren Streuungen so umgerechnet, daß die Mittelwerte der einzelnen Substanzen aus *+*-Hydrolysaten jeweils den Wert von 100 erhielten. Ferner wurden die Gewichte der Differenzen so gesetzt, daß  $S w = N$  wurde. Zur Prüfung, ob die gewichtete mittlere Differenz statistisch gegen Null verschieden sei, wurde das  $t$  nach der Formel [3]:

$$t = \bar{d}_w \sqrt{\frac{N(N-1)}{S Q}}$$

berechnet. Das Abweichungsquadrat ( $S Q$ ) ergibt sich aus der Formel:

$$S Q = S d^2 w - \frac{(S dw)^2}{S w}.$$

Aus dem so errechneten  $t$  ergibt sich für  $\bar{d}_w$  ein  $P$  von 0,17.

Tabelle 1. Mittlere Extinktionswerte ( $M$ ) der einzelnen Aminosäuren aus je 7 Chromatogrammen von *lbl*- und *+*-Puparienhydrolysaten,  $s$  Streuung des Mittelwertes,  $d$  Differenz der Mittelwerte

Substanz	<i>+</i> -Hydrolysat		<i>lbl</i> -Hydrolysat		$d$	$P$
	$M$	$s$	$M$	$s$		
Asparaginsäure . .	209,4	2,71	220,1	14,78	+ 10,7 = 5 %	0,155
Glutaminsäure . .	653,5	22,25	659,0	8,20	+ 5,5 = 1 %	
Serin . . . . .	365,7	17,21	404,8	19,43	+ 39,1 = 10 %	
Glycin . . . . .	229,7	9,15	241,2	16,34	+ 11,5 = 5 %	
Threonin . . . . .	224,4	5,89	243,0	13,20	+ 18,6 = 8 %	0,028
$\alpha$ -Alanin . . . . .	655,5	18,05	731,2	24,60	+ 75,7 = 12 %	
$\beta$ -Alanin . . . . .	54,1	3,05	57,2	6,29	+ 3,1 = 6 %	
Valin . . . . .	378,0	13,62	383,7	21,39	+ 5,7 = 1 %	
Leucin . . . . .	344,0	6,80	382,8	20,21	+ 38,8 = 12 %	0,085
Tyrosin . . . . .	105,0	8,43	121,2	5,72	+ 18,2 = 15 %	0,140
Histidin . . . . .	32,0	2,15	23,2	1,73	- 8,8 = 25 %	0,008
Ornithin . . . . .	49,8	3,55	67,4	6,28	+ 17,6 = 30 %	0,026
Arginin . . . . .	116,8	9,73	119,1	10,27	+ 2,3 = 2 %	0,305
Lysin . . . . .	117,5	2,89	129,8	12,21	+ 12,3 = 10 %	
Prolin . . . . .	44,8	7,90	35,8	4,16	- 9,0 = 20 %	
Substanz Q* . . . .	122,3	19,23	230,4	33,20	+ 108,1 = 88 %	
Total . . . . .	3702,5		4049,9		+ 347,4 = 9 %	

\* Die Substanz Q hat in Propanol-(70 %) Wasser aufsteigend einen  $R_f$ -Wert von 0,458 und in wassergesättigtem Phenol absteigend einen  $R_f$  von 0,366. Eventuell handelt es sich um Taurin.

Statistisch gut gesichert enthalten die *lbl*-Hydrolysate weniger Histidin als die *+*-Hydrolysate und schwach gesichert (Irrtumswahrscheinlichkeit 1,8—2,8%) mehr von Substanz *Q*, Ornithin und  $\alpha$ -Alanin. Glutaminsäure, Valin und Arginin kommen in beiden Hydrolysaten in gleicher Menge vor ( $d=1-2\%$ ), ebenso Asparaginsäure, Glycin,  $\beta$ -Alanin und Threonin ( $d=5-8\%$ ). Alle übrigen Substanzen (ausgenommen sind Histidin und Prolin) zeigen positive Differenzen, d. h. aus *lbl*-Hydrolysaten ergeben sich höhere Mittelwerte für diese Stoffe. Die Unterschiede sind aber, wie schon gesagt, nur für wenige Substanzen einigermaßen gesichert. Wir sind darum zunächst geneigt, die meisten auftretenden Differenzen als zufällig zu betrachten. Wie wir in der Diskussion auf S. 91, 92 noch zeigen werden, könnten die Unterschiede aber doch einen Zusammenhang mit den *lbl*-Phänen haben.

### 3. Therapie und Phänokopie

a) **Künstliche Durchbrenner.** Da die *lbl*-Fliegen scheinbar normal sind, lag es nahe zu untersuchen, wie sich die Fliegen verhalten würden, wenn sie das Puparium nicht selber zu öffnen hätten. Wurden bei schlüpfreifen *lbl*-Puppen mit einer feinen Uhrmacherpinzette die Pupariumdeckel entfernt und die so behandelten Puppen in eine feuchte Kammer verbracht, so schlüpften die Tiere aus. Die Operation hatte allerdings nur dann Erfolg, wenn der Deckel früh genug, d. h. vor Beginn der Schlüpfbewegungen, entfernt wurde. Solche künstliche Durchbrenner sehen ganz normal aus, sind fertil und erreichen ein Alter von 3—4 Wochen. Unter ihren Nachkommen fanden sich 84% Letale, die übrigen waren natürliche Durchbrenner (HADORN 1945), d. h. obwohl sie den Genotypus *lbl/lbl* hatten, schlüpften sie aus. Der relativ hohe Prozentsatz an Durchbrennern kann folgendermaßen erklärt werden. Da einzelne *lbl*-Tiere, falls der Deckel etwas zu spät geöffnet wird, nicht zum Schlüpfen kommen, die natürlichen Durchbrenner (S. 79) aber ohnehin ausschlüpfen, kann deren Anteil an den Zuchten relativ zu groß werden. Ihre Nachkommen können wiederum natürliche Durchbrenner sein.

Die Vitalität der künstlichen Durchbrenner ist auch unter minimalen Lebensbedingungen weitgehend normal. Um dies zu prüfen, wurden Durchbrenner und Kontrolltiere in leeren Flaschen (ohne Futter und Wasser) bei Zimmertemperatur gehalten. Die Durchbrenner lebten fast gleich lang (4—5 Tage) wie die Kontrollen (4—6 Tage).

b) **Phänokopieversuche.** Die Therapieversuche haben gezeigt, daß der schwer zu öffnende Pupariumdeckel als Todesursache der *lbl*-Tiere wirkt. Gelingt es einem Tier, den Deckel zu öffnen, oder muß es diesen Engpaß in der Entwicklung gar nicht passieren, so erhalten wir Durchbrenner. Die oben erwähnten Messungen der Deckelverschlüsse haben gezeigt, daß die *lbl*-Puparien fester verschlossen sind als *+*-Puparien. Es war darum zu untersuchen, ob *+*-Tiere eventuell die gleichen *Bluter*-Phäne zeigen würden, wenn man sie am Schlüpfen verhinderte. Zu diesem Zweck wurden die Verschlüsse von schlüpfreifen *+*-Puppen mit Wachs verklebt. Die *+*-Fliegen machen dann ebenfalls vergebliche Schlüpfbewegungen; nach einiger Zeit tritt ebenfalls Hämolymphe aus, und die Tiere sterben. Die Verfärbung dieser Phänokopien wird aber selten so dunkel wie bei *lbl*-Tieren. Auch dauert es meist länger, bis die Hämolymphe austritt — manchmal unterbleibt dieser Hämolympheverlust überhaupt (vgl. auch S. 84 und 87).

Ist ein  $+$ -Tier in der Lage, ein *lbl*-Puparium zu öffnen? Um dies zu untersuchen, wurden schlüpfreife  $+$ -Puppen, deren Pupariumdeckel entfernt worden war, in leere *lbl*-Puparienvorderteile gesteckt (Abb. 4). Von 10 präparierten  $+$ -Puppen sind 4 geschlüpft, 3 zeigten die typischen Bluterphäne und 3 sind ohne Hämolympheverlust gestorben.

In einer anderen Versuchsserie wurden  $+$ -Puppen und *lbl*-Puppen in Normalpuparien gesteckt. Da die übergestülpten Puparienvorderteile etwas größer, und darum wohl etwas dickwandiger sein müssen als die hineingeschobenen

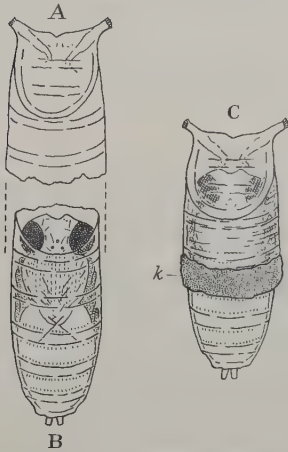


Abb. 4 A—C. Operationsschema zu den im Text beschriebenen Phänokopieversuchen. A *lbl*-Puparienvorderteil; B  $+$ -Puppe: Pupariumdeckel und Vorderteil des Pupariumbodens sind entfernt worden; C *lbl*-Puparienvorderteil über  $+$ -Puppe gestülpt und mit Hämolymphe ange kittet (k)

Puparien, dienten die Kontrollversuche dazu, den Einfluß dieser Operation auf Normaltiere zu studieren. Von 22 operierten Normaltieren schlüpften alle aus. Sieben operierte *lbl*-Puppen mit  $+$ -Pupariumdeckel lieferten 3 Durchbrenner und 4 Letale, die die typischen Bluterphäne zeigten.

Die Versuche zeigen, daß *lbl*-Fliegen unter günstigen Umständen, d. h. falls der aufgesteckte  $+$ -Pupariumdeckel relativ dünn ist, diesen öffnen können, daß aber schon eine relativ leichte Verdickung des Verschlusses (die Normaltiere nicht am Schlüpfen hindern würde) zum Tod der *lbl*-Tiere führt. Daraus schließen wir, daß bei den *lbl*-Fliegen wahrscheinlich die imaginale Cuticula etwas schwächer ausgebildet ist als in  $+$ -Fliegen. Dieser Schluß wird auch durch die Beobachtung gestützt, daß bei den  $+$ -Puppen, deren Deckel mit Wachs zugeklebt wird, einzelne Tiere keine Hämolymphe verlieren, und daß  $+$ -Tiere zum Teil in der Lage sind, *lbl*-Pupariendeckel zu öffnen (vgl. dazu S. 91).

#### 4. Das physiologische Schädigungsmuster

a) Das Verhalten der freien Aminosäuren und Polypeptide während der Entwicklung. Obwohl die Unterschiede zwischen *lbl*- und  $+$ -Puparienproteinen nur relativ klein sind, ist es doch möglich, daß die größere Dicke der *lbl*-Puparien auf einem veränderten Eiweiß-Stoffwechsel der Mutante beruht. Die Frage war nun, ob eine derartige *lbl*-Wirkung nachzuweisen sei und wenn ja, ob diese nur während einer beschränkten Phase im 2./3. Larvenstadium (Bildung der Larvenhaut des 3. Stadiums, die später zum Puparium wird) manifest werde, oder während einer längeren Zeit feststellbar sei. Anders formuliert lautet die Frage: Wirkt der *lbl*-Faktor während einer beschränkten Zeit, oder hat er eventuell eine andauernde Wirkung? Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten der Eiweißbausteine während der Entwicklung von Normaltieren (Stamm Sevelen) und von Letalen führten zu ersten Deutungsmöglichkeiten. Erfasst wurden die freien Polypeptide (Nomenklatur s. BENZ 1955) und die meisten Aminosäuren, ferner Prolin, Glutamin und Taurin. Einige Substanzen wie Tryptophan, Phenylalanin und Cystin konnten wegen ihrer geringen Quantität nicht berücksichtigt werden. Zur Abkürzung der Schreibweise werden für die Entwicklungsstadien



Abkürzungen verwendet, die in Tabelle 2 erläutert sind. Die Entwicklungsgeschwindigkeit der *lbl*-Larven ist nicht offensichtlich verschieden von der Normalentwicklungsgeschwindigkeit. Die Werte gleicher Altersstadien sind also direkt vergleichbar.

Einige Stoffe zeigen während der untersuchten Entwicklungszeit keine oder nur sehr geringe Unterschiede zwischen letalen und normalen Genotypen. Sie sind in der Tabelle 3 zusammengefaßt.

Neben diesen Stoffen zeigen sich für viele Aminosäuren sowie für Glutamin und die Polypeptide Larvin I und Metamorphin ziemlich starke quantitative Unterschiede zwischen *lbl*- und *+*-Tieren. Sowohl letale, wie auch normale Larven des mittleren 2. Stadiums enthalten gleich viel Glutamin (Abb. 5a). Während aber bei den normalen Tieren die Glutaminmenge sehr rasch zunimmt und in L III das Maximum erreicht,

Tabelle 2. Abkürzungen für die verschiedenen untersuchten Entwicklungsstadien und kurze Charakterisierung derselben

Sym- bol	Stadium	Alter nach Eiablage (bei 25° C) Std	Ge- wicht von 10 Tieren in mg
L II	Mittleres 2. Larvenstadium	50	2,6
L III	frühes 3. Larvenstadium	68	7,1
LM	spätes 3. Larvenstadium (migrierende Larven)	96	17,8
VP	Vorpuppenstadium	105	
P I	frühes Puppenstadium	114	
P II	schlüpfreife Puppen, total ausgefärbt	185	

verläuft dieser Anstieg bei *lbl*-Tieren weniger steil, erreicht das Maximum in LM und wird dann etwas langsamer abgebaut. *lbl*-Tiere enthalten also im frühen 3. Larvenstadium viel weniger, in den Stadien LM, VP und P I dagegen bedeutend mehr Glutamin als die *+*-Tiere. In den schlüpfreifen Puppen beider Genotypen finden wir gleich große Mengen dieser Substanz.

Ähnlich verlaufen die Kurven von  $\alpha$ -Alanin und Metamorphin (Abb. 5b u. c). Immerhin treffen wir bei solchen Vergleichen für jede Substanz typische Abweichungen vom Kurventyp, wie er für Glutamin charakteristisch ist. So wird z. B. das Metamorphin erst in L III gebildet und erreicht in *lbl*-Tieren das Maximum, das zudem höher liegt als in Normaltieren, erst in VP. Die Menge des  $\alpha$ -Alanins bleibt während der ganzen Puppenzeit in beiden Genotypen gleich.

Tabelle 3. Substanzen, die in normalen und letalen Genotypen keine (=) oder nur geringe (allerdings statistisch gesicherte) quantitative Unterschiede aufweisen

Das Vorzeichen vor den Zahlen zeigt, ob die *lbl*-Tiere einen entsprechend höheren bzw. niedrigeren Extinktionswert als Normaltiere haben. (Extinktionswerte von normalen Tieren: BENZ 1955)

Substanz	L II	L III	LM	VP	P I	P II
Larvin 2 (Peptid 2) . . .	=	-0,110	=	+0,084	=	=
Präpupin. . . . .	=	=	=	=	+0,020	+0,027
Drosophilin (Peptid 4) . .	=	=	=	=	=	-0,019
Pupin . . . . .	=	=	=	=	=	=
Taurin . . . . .	=	=	=	=	-0,020	-0,024
Valin . . . . .	=	=	=	=	+0,023	=
Leucin . . . . .	=	=	=	=	=	=
Asparaginsäure . . . . .	=	=	=	=	=	=
Lysin . . . . .	=	-0,020	=	=	-0,011	-0,030
Arginin . . . . .	=	+0,020	=	=	=	-0,023

Auch bei der Glutaminsäure (Abb. 5d) wird in *lbl*-Tieren das Maximum verspätet erreicht. Während der ganzen Entwicklungszeit bis zur Puppenbildung enthalten die *+*-Tiere mehr Glutaminsäure (S. 85 und 92). In den Puppenstadien zeigen beide Genotypen gleiche Werte.

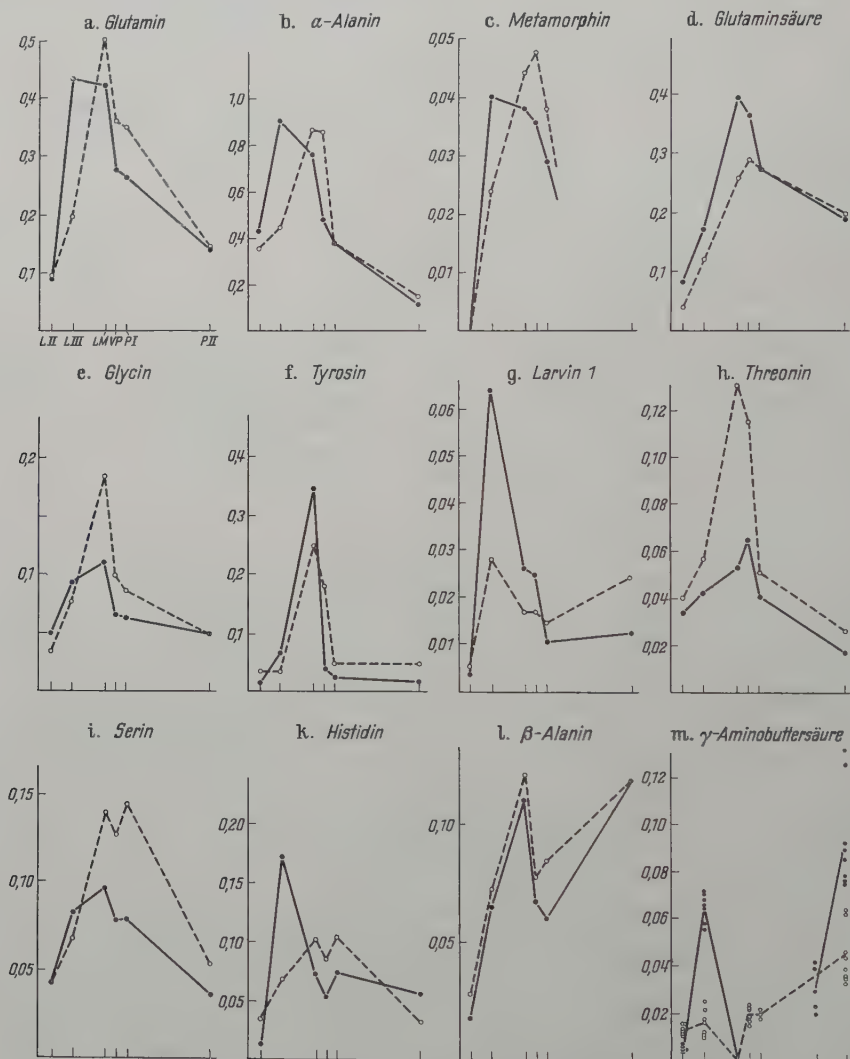


Abb. 5a—m. Kurven für verschiedene Eiweißbausteine, die während der Entwicklung von *+*-Tieren (—) und *lbl*-Tieren (---) größere Unterschiede aufweisen. Auf der Abszisse sind die Entwicklungsstadien eingetragen (Symbole: Tabelle 2). Die auf der Abszisse eingetragenen Abstände entsprechen den ungefähren Altersdifferenzen. In Abb. m sind die einzelnen Meßwerte und für die *+*-Tiere zudem ein mittleres Puppenstadium eingetragen. Ordinate = Extinktionswerte. Anzahl der Bestimmungen für die Mittelwerte der Abb. 5a—l: L II = 6, L III = 7, LM = 8, VP = 6, P I = 6, P II = 8 Chromatogramme

Alle bisher beschriebenen Kurven weisen gemeinsame Merkmale auf: Das Maximum wird bei *lbl* verspätet erreicht; es ist (außer bei Metamorphin) zudem niedriger als in *+*-Tieren. Ferner finden wir in schlüpfreifen Puppen beider Genotypen von den erwähnten Substanzen gleiche Mengen.

Die Kurven für Glycin (Abb. 5e) verlaufen wiederum ähnlich. Wie beim Metamorphin liegt das Maximum in *lbl*-Tieren höher als in Wildtypen und wird langsamer abgebaut. Im Gegensatz zu den bisherigen Kurven wird aber das Maximum in beiden Genotypen gleichzeitig in LM erreicht.

Für Tyrosin und Larvin I (Abb. 5f, g) werden die Maxima ebenfalls in beiden Genotypen gleichzeitig erreicht. In beiden Fällen finden wir aber für die Letalen größere Substanzmengen am Schluß der Entwicklung. Tyrosin zeigt dabei wieder den verzögerten Abbau der Substanzmenge (vgl. S. 88 und 91).

Beim Threonin (Abb. 5h) liegt die Kurve für die *lbl*-Tiere bedeutend höher als bei *+*-Tieren; zudem wird das *lbl*-Maximum früher erreicht. Serin (Abb. 5i) ist in den Letalen (ausgenommen in L II und L III) ebenfalls in größeren Mengen vorhanden. Die Histidinkurve zeigt, ähnlich wie die Glutamingruppe, ein verspätetes Maximum für *lbl*-Tiere.

Die Tabelle 4 zeigt uns, daß sich kleine Unterschiede für  $\alpha$ -Alanin,  $\beta$ -Alanin, Glycin, Threonin,  $\gamma$ -Aminobuttersäure, Tyrosin, Histidin und Glutaminsäure schon im 2. Larvenstadium finden. Die größten chemischen Differenzen zwischen den beiden

Tabelle 4. Übersichtstabelle zu den Unterschieden in den Aminosäuren- und Polypeptidkurven von *+/+*- und *lbl/lbl*-Tieren

In der Tabelle ist eingetragen, ob die betreffende Substanz in den Stadien L II und P II in beiden Genotypen in gleicher Quantität (=) vorhanden sei, oder ob die *lbl*-Tiere mehr (+) oder weniger (—) davon haben. Die Kolonne: Maximum/Höhe zeigt, ob das Maximum in *lbl*-Tieren höher (+) oder niedriger (—) liege als in Normaltieren (eingeklammerte Zeichen bedeuten geringe Unterschiede; 2 Zeichen bedeuten 2 Gipfelpunkte der Kurven). Aus der Kolonne Maximum/Stadium ist ersichtlich, ob das Maximum in *lbl*-Tieren im gleichen Stadium oder um so viele Stadien (Tabelle 2), wie die Zahl angibt, verfrüht (—) oder verspätet (+) erreicht wird.

Substanz	Quantität		Maximum	
	L II	P II	Höhe	Stadium
Glutamin . . . . .	=	=	+	+1
$\alpha$ -Alanin . . . . .	—	=	(—)	+1
Metamorphin . . . .			+	+2
Glutaminsäure . . . .	—	—	—	+1
Glycin . . . . .	—	=	+	=
Tyrosin . . . . .	+	+	—	=
Larvin I . . . . .	=	+	—	=
Threonin . . . . .	+	+	+	—1
Serin . . . . .	—	+	+	=
Histidin . . . . .	+	—	—/+	+1/=
$\beta$ -Alanin . . . . .	+	—	—/=	—1/=
$\gamma$ -Aminobuttersäure.	+	—	—/—	=

Genotypen treten aber erst im 3. Larvenstadium auf, d. h. in jenem Stadium, in dem das zukünftige Puparium gebildet wird. Der Gehalt an freien Eiweißbausteinen ist in *lbl*-Larven dieses Stadiums bedeutend niedriger als in *+*-Tieren (Abb. 6). Im späten Puppenstadium zeigen beide Genotypen im Substanzgehalt nur noch geringe Unterschiede (vgl. auch Tabelle 3), nämlich bei 9 von 22 Substanzen. Aus der Abb. 5 entnehmen wir zudem, daß das Vorpuppenstadium der *lbl*-Tiere, d. h. das Stadium in dem die Puppenhaut gebildet wird, einen ziemlich stark veränderten Chemismus aufweist.

b) Tyrosinase-Aktivität. Wie wir auf S. 83 gesehen haben, verfärben sich die *+*-Puppen, die in Phänokopieversuchen verblutet sind, nicht so dunkel wie *lbl*-Puppen. Es fragt sich nun, ob die etwas größere Tyrosinmenge der schlüpfreifen *lbl*-Puppen (Abb. 5f) dieses Phän bewirke, oder ob in den Letalen eventuell die Tyrosinaseaktivität (OHNISHI 1951) etwas erhöht sei. Für diese Untersuchungen wurden in Reagenzgläsern mit je 1 cm<sup>3</sup> gesättigter, wässriger Tyrosinlösung von 0° C je 10 schlüpfreife *lbl/lbl*- bzw. *+/+*-Puppen zerdrückt und



zerrieben. Die Lösungen wurden dann im Eisschrank aufbewahrt (HOROWITZ 1955) und von Zeit zu Zeit kontrolliert. Die Puppen beider Genotypen bewirkten in 12 Std die gleiche Graufärbung und in 24 Std die gleich intensive Schwarzfärbung der Lösung. Offensichtlich ist also nur der erhöhte Tyrosingehalt der Letalen ausschlaggebend für deren intensivere Verfärbung.

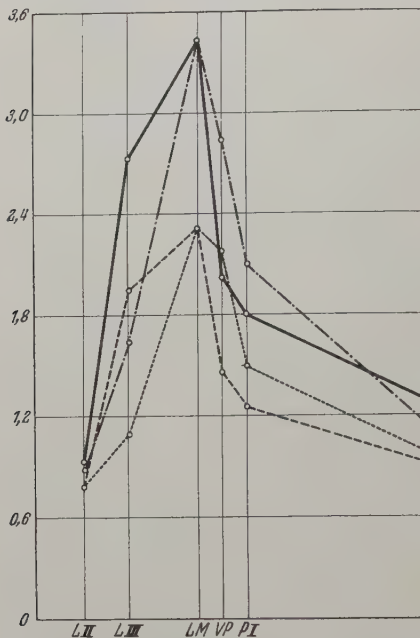


Abb. 6. Verlauf der Gesamtkurven der Eiweißbausteine von +/-Tieren und *lbl/lbl*-Tieren. — Total der ninhydrinpositiven Substanzen von +/-Tieren; - - - dasselbe für *lbl*-Tiere; ... Total der Aminosäuren von +/-Tieren; . . . dasselbe für *lbl*-Tiere. (Anzahl der Bestimmungen s. Abb. 5)

den. Durch Selektion während vieler Generationen gelang es, in einigen Stämmen die Penetranz des Faktors auf wenige Prozent zu erniedrigen (33, 20 und 4% in drei verschiedenen Stämmen). Damit ist der Zustand eines Subvitalstammes (HADORN 1948a) erreicht.

Wie sind diese Penetranzänderungen genetisch zu erklären? Handelt es sich um die Wirkung eines oder mehrerer Modifikatorgene, d. h. um Gene, die die Wirkung des *lbl*-Faktors aufheben, oder ist der *lbl*-Faktor eventuell labil?

Wären die Durchbrenner durch ein rezessives Modifikator-Gen oder durch eine Kombination einiger rezessiver Gene bedingt, so wären die Durchbrenner homozygot für diese Modifikatoren; ihre Nachkommen müßten also wieder vital sein. Auskreuzungen zwischen Durchbrennern zeigen aber, daß der größere Teil ihrer Nachkommen wieder letal ist.

Nehmen wir einen dominanten Modifikator (*Md*) an, so könnten die Durchbrenner die genetische Konstitution *lbl Md/lbl Md* oder *lbl Md/lbl+* haben. Aus der Zahl der normalerweise auftretenden Durchbrenner würde sich für den gewöhnlichen *lbl/Cy*-Stamm eine Frequenz des hypothetischen Modifikator-Gens von 6–7% ergeben. Innerhalb der Klasse *lbl/lbl* würden dann 0,5% *Md Md*, 11,5% *Md+* und 88% ++ auftreten. Wir erwarten dann, daß die *lbl+/lbl+* (88% ++) sterben. Von irgendwelchen Durchbrennern könnten wir danach 25 *Md*-Gameten auf 23+-Gameten erwarten ( $0,5\% Md Md : 11,5\% Md+ = 1:23 = 25 Md$  zu

### 5. Expressivität und Penetranz des Faktors

a) Die Expressivität. Die Überschneidung der Kurven in den Abb. 2 und 3 zeigen, daß Übergänge zwischen den dünnwandigen Wild- und den dicken *lbl*-Puparien vorkommen. Hin und wieder treten auch Durchbrenner mit verklebten, nicht entfalten Flügeln auf. Solche *lbl*-Fliegen sind zwar ausgeschlüpft, haben aber bereits etwas Hämolymphe verloren. Sie leben durchschnittlich nur halb so lang wie Normaltiere. Somit manifestiert sich der *lbl*-Faktor in verschiedenen Expressivitätsstufen.

b) Die Penetranz. Den verschiedenen Expressivitätsstufen des Faktors entspricht seine unvollständige Penetranz. In den meisten Zuchten treten 1–2% Durchbrenner auf. In diesen Individuen ist die Expressivität des Faktors scheinbar Null. Da die Durchbrenner normal fertil sind, können „Durchbrennerstämme“ gezüchtet werden.

23+). Werden Durchbrenner mit *lbl/Cy*-Tieren ausgekreuzt, so erwarten wir 50% *Cy*-Tiere (*lbl/Cy*), die vital sind, ferner etwa 26% Tiere, die ein *Md* von den Durchbrennern und weiter noch 2–3% Tiere, die ein *Md* von den *lbl/Cy*-Tieren geerbt haben. Wir müßten also etwa 79% vitale Fliegen zu 21% letalen Puppen erwarten.

Tatsächlich haben Auskreuzungen zwischen Durchbrennern und *lbl/Cy*-Tieren auf 1072 Fliegen (696 mit gekrümmten und 376 mit geraden Flügeln) 266 letale Puppen ergeben, d. h. rund 20% Letale. Dieses Ergebnis stimmt ausgezeichnet mit der eben dargelegten Hypothese überein.

Die Möglichkeit, daß *lbl* labil sei, d. h. daß *lbl* rückmutiere, kann nach den vorhandenen Daten nicht von der Hand gewiesen werden. Auch für diesen Fall würden die oben genannten Zahlen sprechen. Der zu + rückmutierte *lbl*-Locus wäre ebenfalls dominant. Doch ist ein solches Verhalten recht unwahrscheinlich.

Eventuell könnte auch die Annahme, daß das ganze Genom modifizierend wirke, das Durchbrennerphänomen erklären. Ohne Zweifel ist die Durchbrennerzahl eine genetisch bedingte Größe, die allerdings auch durch Umweltfaktoren etwas verändert werden kann.

c) Abhängigkeit der Penetranz von der Umwelt. α) *Temperatur und Nahrungsabhängigkeit*. Wie die Tabelle 5 zeigt, sinkt die Durchbrennerzahl mit steigender Zuchttemperatur und umgekehrt. Wurden *lbl/Cy*-Zuchten auf ungenügender Futtermenge angesetzt, so traten mehr Durchbrenner auf (etwa 10%). In beiden Versuchsserien wird die Durchbrennerzahl erhöht, wenn die Entwicklungsgeschwindigkeit verlangsamt wird. Es war nun zu prüfen, ob die verlängerte Larvenzeit oder eine verlängerte Puppenzeit die Durchbrenner-Rate verändern würde.

β) *Verlängerte Entwicklungszeit durch Chemikalien*. Durch einen Zusatz von 0.5% Nipagin zum Standardfutter konnte die Entwicklungszeit der Tiere bei 25° um 5–8 Tage verlängert werden. Wurden Tiere von einem Subvitalstamm auf solchem Futter gezogen, so traten mehr Durchbrenner auf (Tabelle 5).

Tabelle 5. Zuchtergebnisse eines *lbl/Cy*-Stammes (oben) bei verschiedenen Temperaturen. Untere Hälfte: Zuchtergebnisse eines Subvitalstammes auf 1. Standardfutter, 2. Standardfutter mit 0,5% Nipagin und 3. Standardfutter bis zum 4. Tag nach Eiablage, dann auf Futter weitergezogen, das 0,08% Euchinin enthielt

Stamm	Temperatur °C	Puppen	Letale	Durchbrenner
<i>lbl/Cy</i> . . . . .	28	970	270 = 24,3%	14 = 1,4%
<i>lbl/Cy</i> . . . . .	25	1357	456 = 26,3%	34 = 2,5%
<i>lbl/Cy</i> . . . . .	18	1100	371 = 27,2%	61 = 5,5%
<i>lbl</i> -Subvital (Kontrolle) .	25	987	320 = 32%	667 = 68%
<i>lbl</i> -Subvital Nipaginzucht	25	590	150 = 25%	440 = 75%
<i>lbl</i> -Subvital Euchininzucht	25	303	67 = 22%	245 = 78%

Eine Verlängerung der Entwicklungszeit konnte auch mit Euchinin, einem fast geschmacklosen Chininderivat, erzielt werden. 90 Std alte Larven, die auf Futter, das 0,08% Euchinin enthält, weitergezogen werden, verpuppen sich nicht merklich später als unbehandelte Tiere; hingegen wird die Puppenzeit in den Euchininzuchten um rund 12 Std verlängert. Diese kurze Zeit genügt, um die Durchbrennerzahl zu erhöhen (Tabelle 5).

Es ist denkbar, daß der Wirkungsmechanismus in den Nipagin- bzw. Euchininzuchten ein verschiedener ist. Euchinin wirkt ohne Zweifel lähmend auf die Muskulatur von *Drosophila* (s. 2. Teil dieser Arbeit, S. 106). Es könnte nun

sein, daß die schlüpfreifen Fliegen unter dem Einfluß des aufgenommenen Euchi-nins längere Zeit keine Schlüpfbewegungen machen können, obwohl die Tiere eigentlich schlüpfbereit wären. Während dieser verlängerten Puppenzeit könnte sich die Cuticula der Imago etwas stärker verfestigen, so daß sie widerstandsfähiger gegen den eigenen Blutdruck wird. Diese Annahme wird durch die Beobachtung gestützt, daß sowohl *lbl/lbl*- wie auch *+/+*-Tiere, die am Schlüpfen verhindert werden und die während den Schlüpfversuchen Hämolymphe verlieren, nach einiger Zeit eine ziemlich stark ausgefärbte Cuticula aufweisen. Das Integument verändert sich also während der aufgezwungenen Wartezeit innerhalb des Pupariums.

## 6. Diskussion

a) **Zu den morphologischen Phänen.** Die morphologischen Phäne des *lbl*-Faktors sind sehr einfacher, quantitativer Natur. Als Folge einer Verdickung der larvalen Cuticula treten abnormal verdickte Puparien auf, deren Deckel dementsprechend weniger leicht zu öffnen ist. Die entstehende Imago ist scheinbar normal, vermag aber den verdickten Pupariumdeckel nicht aufzusprengen.

Wie gezeigt wurde, kann eine *lbl*-Fliege auch einen normalen Pupariumdeckel nicht unbedingt öffnen (S. 84). Aus einer anderen Versuchsanordnung geht hervor, daß einzelne *+*-Tiere ein *lbl*-Puparium zu sprengen vermögen. Schließlich zeigen die Therapieversuche, daß eine *lbl*-Imago, falls sie beim Schlüpfen keinen übermäßigen Widerstand zu überwinden hat, der Pupariumdeckel also bereits geöffnet ist, vollständig normal und vital sein kann.

Aus diesen Ergebnissen schließen wir, daß der *lbl*-Faktor neben der larvalen Cuticula (zukünftiges Puparium) auch die imaginale Cuticula beeinflusst. Diese ist etwas schwächer als die normale Cuticula und kann den hohen „Blutdruck“, wie er für das Öffnen des Pupariums notwendig ist (Ausstülpen der Kopfblase), nicht aushalten.

b) **Zur Wirkungsphase des *lbl*-Faktors.** Wir ersehen aus den Tabellen 3 und 4, daß in *lbl*- und in *+*-Larven des 2. Stadiums viele der entsprechenden Eiweißbausteine in gleichen Mengen vorkommen. Dagegen zeigen  $\alpha$ -Alanin,  $\beta$ -Alanin, Glutaminsäure, Glycin, Tyrosin, Threonin, Histidin und  $\gamma$ -Aminobuttersäure in den beiden Rassen statistisch gesicherte quantitative Unterschiede. Diese Differenzen könnten auf der bereits in diesem Stadium einsetzenden Wirkung des *lbl*-Faktors beruhen. Verfolgt man in der Abb. 5a—m die Entwicklung der erwähnten Substanzen weiter, so fällt auf, daß sie in *lbl*-Larven des frühen 3. Stadiums die gleiche Tendenz des Abweichens vom Normalen aufweisen wie im 2. Larvenstadium (Ausnahmen sind Tyrosin, Histidin und  $\gamma$ -Aminobuttersäure). Obwohl diese Befunde für eine Frühwirkung von *lbl* sprechen, besteht doch auch die Möglichkeit, daß die erwähnten Unterschiede auf den Wirkungen des Gesamtgenoms der verglichenen Stämme beruhen.

Im 3. Larvenstadium finden wir für die meisten Eiweißbausteine (Ausnahmen in Tabelle 3) quantitative Unterschiede zwischen den *lbl*- und den Normaltieren. Dieses Ergebnis zeigt, daß der Erbfaktor *lbl* sicher spätestens im 3. Larvenstadium in den Eiweißstoffwechsel der Mutante eingreift. Wie Abb. 6 darstellt, sind die quantitativen Unterschiede in den freien Eiweißbausteinen dieses Entwicklungsstadiums am größten. Wir dürfen daraus wohl schließen, daß der *lbl*-Faktor



vor allem im 3. Larvenstadium den Chemismus der Mutante beeinflusst. Aus den Kurven der Abb. 5 ersieht man aber auch, daß dieser Einfluß bis mindestens nach der Puppenbildung anhält, ein Befund, der den Schluß aus den Phänotypkopieexperimenten, wonach der *lbl*-Faktor auch die imaginale Cuticula beeinflusst, unterstützt. Ferner zeigen uns die Tabellen 3 und 4, daß die schlüpfreifen *lbl*-Puppen in ihrem Chemismus wieder weitgehend normal sind. Die gute Vitalität der aus Therapieversuchen gewonnenen Durchbrenner ließ dieses Resultat erwarten. Wir vermuten daher, daß die direkte Wirkung des *lbl*-Faktors im mittleren Puppenstadium (nach der Ausbildung des imaginalen Integumentes) aufhöre. Falls dies stimmt, müßten wir die am Ende der Puppenzeit noch auftretenden Unterschiede zwischen normalen und letalen Tieren als nachträgliche Folgen der früheren Stoffwechselstörungen betrachten; oder es könnte sich um Wirkungen des Gesamtgenoms handeln, die nicht notwendig nur auf den *lbl*-Locus zurückzuführen wären. Für die Annahme, daß der *lbl*-Faktor bis zum Schluß der Entwicklung wirke, spricht das für *lbl*-Puppen so typische Phän der starken Schwarzfärbung, die, wie wir auf S. 88 dargelegt haben, auf der größeren Tyrosinmenge der schlüpfreifen *lbl*-Tiere beruht. Ein sicherer Entscheid ist nach unseren Untersuchungen jedoch nicht möglich.

c) Zur physiologischen Wirkung des *lbl*-Faktors. Die *lbl*-Tiere enthalten im frühen 3. Larvenstadium bedeutend weniger freie Aminosäuren als die Normaltiere (Abb. 6). Umgekehrt bilden die *lbl*-Larven ein bedeutend dickeres Integument. Ob diese beiden Phäne wohl einen direkten Zusammenhang haben? Könnte die Menge der freien Aminosäuren in den *lbl*-Larven deshalb gering sein, weil diese Eiweißbausteine zur Bildung des dickeren Pupariums vermehrt beansprucht werden? Einige Befunde sprechen für diese Annahme. Vergleichen wir z. B. die Werte der Tabelle 1 mit den Kurven der Abb. 5, so fällt auf, daß Tyrosin und  $\alpha$ -Alanin, ferner Ornithin (Extinktionswerte für Ornithin in L III:  $\pm/\pm = 0,022 \pm 0,0021$ ; *lbl/lbl* =  $0,015 \pm 0,0011$ ), die alle mit mehr als 10% höheren Werten in Hydrolysaten aus *lbl*-Puparien vertreten sind, in *lbl*-Larven des frühen 3. Stadiums in geringeren Mengen frei vorkommen. Dies sieht aus, als ob diese Substanzen in den *lbl*-Larven nur deshalb untervertreten wären, weil sie zu stark für die Bildung der Cuticular-Eiweiße beansprucht würden. Arginin (Tabelle 3) dagegen ist in den *lbl*-Larven etwas stärker vertreten als in  $\pm$ -Larven, hat aber an der Zusammensetzung der Substanz von *lbl*-Puparien einen relativ geringen Anteil. Danach könnte man sich denken, daß *lbl*-Larven etwas mehr freies Arginin besitzen, weil dieses zum Aufbau der Cuticula nicht voll verwendet wird. Das Verhalten von Glutaminsäure und Histidin, die ebenfalls im frühen 3. Larvenstadium schwach vertreten sind, aber auch an der Bildung der *lbl*-Puparien einen relativ geringen Anteil haben, scheinen dagegen nicht für unsere Deutung zu sprechen.

Tyrosin,  $\alpha$ -Alanin und Ornithin sind nach RUDKIN und SCHULTZ (1947) keine essentiellen Aminosäuren für *Drosophila*. Nach diesen Autoren sind für *Drosophila* folgende 10 Aminosäuren unbedingt notwendig: Arginin, Histidin, Isoleucin, Leucin, Lysin, Methionin, Phenylalanin, Threonin, Tryptophan und Valin. HINTON *et al.* (1951) haben zudem gezeigt, daß auch Glutaminsäure, Glycin und Cystin wichtig, d. h. fast essentiell sind. Von all diesen Aminosäuren sind Arginin, Histidin, Valin und Glutaminsäure im Eiweiß von *lbl*-Puparien relativ schwach vertreten; Methionin, Phenylalanin, Tryptophan und Cystin können nicht nachgewiesen werden. Von den essentiellen Aminosäuren kommt einzig Leucin in bedeutend

größerer Menge in *lbl*-Puparien vor. Der Unterschied gegenüber Normal beträgt bei einem *P* von 0,085 = 12%.

Die Resultate könnten wie folgt interpretiert werden:

1. Die für den Aufbau und den normalen Stoffwechsel des Organismus sehr wichtigen Aminosäuren, welche durch die Wirkung des *lbl*-Faktors nur in geringen Mengen zur Verfügung stehen, werden für den Aufbau der *lbl*-Cuticula möglichst sparsam verwendet.

2. Nicht essentielle Aminosäuren werden in erhöhtem Maße zur Bildung der Cuticula herangezogen.

3. Eine ganz besondere Steigerung erfährt die Substanz *Q* in *lbl*-Puparien. Sie könnte als besonderes Baumaterial für Puparien aufgefaßt werden.

Interessant ist der früh auftretende Überschuß des Glycins im letalen Genotypus. CHEN und HADORN (1955) haben eine erhöhte Glycinkonzentration auch als Wirkung des Letalfaktors *lme* festgestellt (vgl. auch *lpm*, S. 105). In Hungerlarven, die nach SCHMID (1949) morphologisch ziemlich genaue Phänokopien von *lme*-Larven sind, konnten die Autoren keinen Glycinanstieg beobachten. Aus dieser Tatsache schließen sie, daß die Störung des Eiweißstoffwechsels in der *lme*-Mutante locuspezifisch bedingt sei. Wie KIDDER und DEWEY (1945) nachgewiesen haben, hat Glycin eine stark entgiftende Wirkung auf den *Tetrahymena*-, Organismus“. Das gleiche nehmen HINTON *et al.* (1951) für *Drosophila* an. Diese Autoren konnten auch zeigen, daß Serin schon in relativ geringen Dosen giftig auf den *Drosophila*-Organismus wirkt. Wie aus Abb. 5i zu entnehmen ist, enthalten *lbl*-Tiere in den späteren Entwicklungsstadien bedeutend mehr Serin als Normaltiere (vgl. S. 93). Wahrscheinlich hat nun der Überschuß an Glycin im *lbl*-Organismus eine entgiftende und stabilisierende Funktion. Es wäre auch denkbar, daß der Glycinüberschuß nur eine sekundäre Reaktion des *lbl*-Organismus auf die Störungen im Aminosäurengleichgewicht darstellt. Die fehlende Zunahme des Glycins in Hungerlarven (die ebenfalls ein recht empfindlich gestörtes Aminosäurengleichgewicht aufweisen) spricht allerdings gegen diese Auffassung.

Für Glutaminsäure (Abb. 5d), die maßgeblich am Umbau bereits vorhandener Proteine beteiligt sein muß (Transaminierung), ergeben sich während der ganzen Puppenzeit keine quantitativen Unterschiede zwischen letalen und normalen Tieren. Da die entstehenden *lbl*-Fliegen mehr oder weniger normal entwickelt sind, durfte dieses Resultat erwartet werden. Das während der Larven- und Vorpuppenzeit der *lbl*-Tiere auftretende Manko an Glutaminsäure scheint eine direkte Wirkung des *lbl*-Faktors zu sein.

Glutamin (Abb. 5a), das durch die Wirkung der Glutaminase direkt Glutaminsäure liefern kann und umgekehrt aus Glutaminsäure entsteht, ist in *lbl*-Larven des frühen 3. Stadiums ebenfalls relativ schwach vertreten. In migrierenden *lbl*-Larven, in *lbl*-Vorpuppen und frischen -Puppen ist Glutamin dagegen in sehr großen Mengen vorhanden. Es scheint, daß in *lbl*-Tieren dieser Stadien abnormal viel überschüssiger Stickstoff gebunden werden muß. Für diese Ansicht spricht auch die oben erwähnte gleichzeitige Zunahme des Glycins in *lbl*-Tieren. Falls nämlich in *Drosophila* der Stickstoffabbau gleich verläuft wie in Vögeln (BUCHANAN, SONNE und DELLUVA, nach EDLBACHER und LEUTHARDT 1952), würde Glycin zur Bildung des Purinskelettes der Harnsäure verwendet. Die von HIN-

TON *et al.* (1951) festgestellte, entgiftende Wirkung großer Glycinmengen könnte wohl mit diesem Prozeß in direktem Zusammenhang stehen.

**d) Schlußbetrachtung.** Alle Ergebnisse zeigen, daß der *lbl*-Faktor die Bildung der Cuticula beeinflusst. Diese ist in der erwachsenen Larve zu stark, in der Imago aber zu schwach entwickelt. Die Eiweiße der *lbl*-Puparien sind etwas anders zusammengesetzt als die entsprechenden Proteine der *+*-Tiere. Die abnormale Cuticula-Entwicklung in *lbl*-Tieren ist, soweit ersichtlich, die Folge eines veränderten Eiweißstoffwechsels. Sehr wahrscheinlich sind dabei viele dieser Veränderungen sekundäre Reaktionen des Organismus.

Die Frage nach der primären Wirkung des *lbl*-Faktors läßt sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit nicht beantworten. Es könnten die vorläufig noch recht wenig bekannten biochemischen Vorgänge des Eiweißstoffwechsels mit Hilfe von Tracer-Isotopen näher untersucht werden. So könnte bei geeigneter Versuchsanordnung wahrscheinlich festgestellt werden, ob die Zunahme des Serins in *lbl*-Tieren mit der gleichzeitig auftretenden Zunahme der Glycin-Konzentration einen direkten Zusammenhang hat und wenn ja, ob Glycin in Serin, oder Serin in Glycin umgewandelt wird (vgl. *lpm*, S. 105). Auf gleiche Weise ließe sich überprüfen, ob der Glycinüberschuß, was durchaus möglich wäre, eine Folge des starken Threoninüberschusses (Abb. 5h) ist. Auch wäre es wichtig zu wissen, auf welche Weise der *lbl*-Organismus zu diesem Überschuß einer essentiellen Aminosäure kommt. In dieser Richtung müßte die Lösung der Frage nach der primären Wirkung des Faktors gesucht werden.

#### IV. Der Faktor *letal-polymorph (lpm)*

##### 1. Genetik

Der Faktor *lpm* ist rezessiv und liegt wie *lbl* im linken Schenkel des 2. Chromosoms (BENZ 1953). Er wurde ebenfalls mit Hilfe der beiden dominanten Faktoren *Bl* und *L*<sup>2</sup> (Loci S. 80) lokalisiert. Unter 4481 Nachkommen von *Bl L/lpm*-Weibchen, die mit *lpm/Cy*-Männchen ausgekreuzt worden waren, fanden sich 1116 Fliegen die weder *lpm* homozygot, noch den Faktor *Cy* enthielten. Unter den 1116 zur Locus-Bestimmung verwendeten Tieren befanden sich folgende Genotypen: 732 *Bl L/lpm* (Noncrossoverklasse), 234 *+/lpm* (Crossingovers zwischen *Bl* und *L*) und 29 *L/lpm* (Doppelcrossingovers). Da das Centromer zwischen den Faktoren *Bl* und *L* liegt, ist die geringe Crossingoverzahl zwischen diesen Loci (13,1 anstatt 17,2%) nicht unerwartet. Aus obigen Zahlen läßt sich ein Rekombinationswert von 23,5% für die Strecke *lpm*—*Bl* errechnen (Locus 31,3 ±). Da aber nur Crossingoverwerte bis zu 10% als repräsentativ für die Map-Distance gelten, wurde mit dem Faktor *Jammed* (*J*, 2—41,0) eine genauere Lokalisation versucht. *J* erwies sich als äußerst ungünstig, weil er das *Cy*-Phän beeinträchtigte, so daß es nur mit Mühe gelang, die Tiere nach ihren Genotypen zu ordnen. Es fanden sich unter 466 für die Crossingoverberechnung verwendeten Fliegen 416 *J*- und 50 *+*-Tiere. Diese Phänotypen repräsentieren 50 Crossingovers zwischen *J* und *lpm*, oder 10,7% Austauschgameten. Daraus errechnet sich der approximative Locus von *lpm* auf 30,3 ± (BENZ 1953).

Durchbrenner (HADORN 1949) kommen in *lpm/Cy*-Zuchten nur selten vor (höchstens 1,3%). Durch Selektion können aber Durchbrennerstämme gezüchtet werden (S. 106).

##### 2. Entwicklung der Mutante

**a) Aufwachsraten.** In den *lpm/+*- oder *lpm/Cy*-Zuchten fallen viele abnormal lange, schmale Puppen auf. Es handelt sich um die letalen *lpm/lpm*-Puppen. Solche, für den Faktor *lpm* homozygoten Tiere haben eine abnorme Pupalisierung



durchgemacht, d. h. die betreffenden Larven haben sich vor der Pupariumbildung nicht so stark kontrahiert wie normale Larven (Abb. 7). Diese *lpm*-Individuen machen entweder keine weitere Metamorphose mehr durch (sog. Pseudopuppen, HADORN 1937), oder sie bleiben auf einem späteren Entwicklungsstadium stehen; zum Teil aber entwickeln sie sich bis zu vollständig ausdifferenzierten, aber nicht schlüpffähigen Imagines.

Neben den abgestorbenen Pseudopuppen und Puppen findet man unter den Nachkommen von Eltern, die für *lpm* heterozygot sind, häufig auch tote, ver-

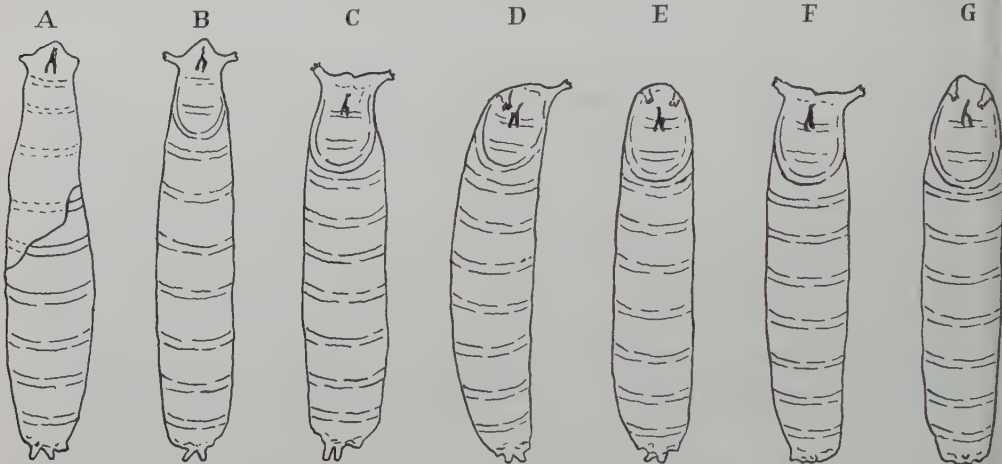


Abb. 7 A—G. Verschiedene *lpm*-Puppenformen: A Puparium nur hinten ausgebildet; B Kopfsegment nicht eingezogen; C Standard-*lpm*-Puppe; D Vorderstigma nur einseitig ausgestülpt, Tier oft gekrümmt; E Vorderstigma nicht ausgestülpt; F Hinterstigma nicht ausgestülpt; G Vorder- und Hinterstigma nicht ausgestülpt

puppungsreife Larven. Die Zahlen der Tabelle 6 zeigen, daß von den Nachkommen aus *lpm/+*  $\times$  *lpm/+*-Kreuzungen ziemlich viele Tiere schon im Larven-

stadium sterben (11 %). Nur 6 % der Tiere starben in diesen Zuchten als Pseudopuppen und Puppen.

Von den 48 abgestorbenen Larven waren nur neun verpuppungsreif. Die anderen 39 Larven müssen

in einem früheren Entwicklungsstadium eingegangen sein. Theoretisch sind 25 % Letale vom Genotypus *lpm/lpm* und 75 % Geschlüpfte der Genotypen *lpm/+* und *+/+* zu erwarten. Wir erhalten aber 17 % Letale und 83 % Geschlüpfte. Dieses Verhältnis spricht dafür, daß sich unter den Geschlüpfen auch Durchbrenner, also *lpm/lpm*-Tiere befinden (S. 106).

Vergleicht man nach Abb. 8 die Aufwachsahlen der einzelnen 6 Zuchten von Tabelle 6, so zeigt sich, daß in Zuchten mit viel letalen Larven wenig letale Puppen zu finden sind und umgekehrt (Verschiebungseffekt, HADORN und CHEN 1952). In Abb. 8 ist zudem die mutmaßliche Durchbrenner-Zahl eingetragen. Dabei wurde vorausgesetzt, daß alle absterbenden Larven und Puppen tat-

Tabelle 6. Gesamtzahlen aus 6 *lpm/+*  $\times$  *lpm/+*-Zuchten

Stadium	Anzahl	%	Differenz	Bemerkungen
Eier . .	465		10	weiß, unbefruchtet
Larven .	455	100	48 = 11 %	abgestorbene Larven
Puppen .	407	89	28 = 6 %	<i>lpm</i> -Puppen
Fliegen .	379	83		

sächlich homozygote *lpm*-Tiere sind. Es wurde also die residuale Mortalität, d. h. ein Absterben, das nicht auf dem *lpm*-Faktor beruht, vernachlässigt.

b) Zur Phasenspezifität der Letalität. Vergleichen wir in Abb. 8 die Resultate der Zucht I mit denjenigen der Zucht VI, so wird ersichtlich, daß in VI alle Letalen im Puppenstadium, in I aber alle als Larven gestorben sind. Ähnlich verhalten sich die Zuchten II und V, während die Zuchten III und IV, mit einer ziemlich gleichmäßigen Verteilung des Entwicklungsstillstandes auf beide Entwicklungsstadien, zwischen den Extremen stehen.

In der Abb. 8 sind nur 4 Stadien berücksichtigt. Nach HADORN (1951) werden aber in der Entwicklung von *Drosophila* fünf sensible Hauptphasen für genbedingte Letalität unterschieden: Embryonal-Phase (E), Larval-Phase (L), Präpupal-Phase (Pr), Pupal-Phase (P) und Imaginal-Phase (I). Zur Bezeichnung der Absterbezeit einer Letalmutante werden die eben erwähnten Symbole verwendet. Zwischen den 5 Hauptphasen können noch 4 Phasen von „Grenzletalität“ eingeschoben werden, z. B. Larval-Präpupal-Grenzletalität (L/Pr), wenn die Letaltiere entweder als verpuppungsreife Larven oder unmittelbar nach der Pupariumbildung als Präpuppen sterben. Dabei ist die Verteilung der Letalen auf die eine oder andere Phase mehr oder weniger großen Schwankungen unterworfen. In einer weiteren Arbeit von HADORN und CHEN (1952) wird innerhalb der Larval-Phase noch zwischen Letalität am Anfang des 1. Larvenstadiums (L Ia), Letalität zu Beginn des 3. Larvenstadiums (L IIIa) und Letalität am Ende des 3. Larvenstadiums (L IIIe) unterschieden. Andere Letalphasen bei Larven wurden von den genannten Autoren nicht gefunden. Bei allen untersuchten Letalfaktoren konnte festgestellt werden, daß der Tod in einer bestimmten Phase (monophasische Letalität) oder in zwei getrennten Phasen (diphasische Letalität) eintritt. Nie konnte ausgesprochen polyphasische oder aphasische Letalität nachgewiesen werden.

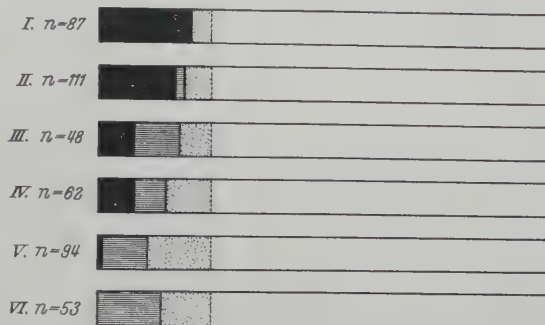


Abb. 8. Darstellung der *lpm/+*-Einzelzuchten aus Tabelle 6. Die Abbildung zeigt die Absterbephase von *lpm*-Tieren in 6 Zuchten sowie die mutmaßliche Durchbrennerzahl. Legende: schwarz ausgefüllt = larval Letale; schraffiert = pupal Letale; punktiert = mutmaßliche Durchbrenner; leer = Normale.  
n = Anzahl der Tiere je Zuchtschale = 100 %

Tabelle 7. Aufwachsahlen eines *lpm/Cy*-Stammes mit besonderer Berücksichtigung aller abgestorbenen Tiere und deren Todesstadium

Die wenigen unbefruchteten bzw. frühembryonal-letalen Eier wurden nicht in die Tabelle aufgenommen. Die im 1. Larvenstadium gestorbenen Tiere sind nicht direkt gezählt worden; ihr Anteil konnte errechnet werden. Er umfaßt vor allem die *Cy/Cy*-Tiere und wahrscheinlich einen Teil der *lpm*-Tiere (s. unten). Die Larven des 2. und 3. Stadiums konnten an Hand des Mundhakenapparates mit großer Sicherheit voneinander unterschieden werden.

Be-fruch-tete Eier	Letale Tiere						Nor-male Pup-pen
	E	L I	L II	L III	Pr	P	
649	7	195	13	73	26	6	329
100 %	1 %	30 %	2 %	11 %	4 %	1 %	51 %
In % von den <i>lpm</i> -Tieren		(25 %)	(8 %)	47 %	16 %	4 %	

Wie steht es nun mit der Phasenspezifität des *lpm*-Faktors? Die Untersuchung eines stark expressiven *lpm/Cy*-Stammes ergab die Resultate der Tabelle 7.

Da 51% normale *lpm/Cy*-Puppen gebildet wurden (Erwartung = 50%), kann die residuale Mortalität für die Normaltiere in diesen Zuchten nur eine geringe Rolle gespielt haben. Daraus ergibt sich, daß abgesehen von den 25% *Cy/Cy*-Lärvchen die meisten abgestorbenen Tiere den Genotypus *lpm/lpm* hatten. Ob alle *lpm*-Tiere aber infolge direkter Wirkung des *lpm*-Faktors gestorben sind, läßt sich allerdings nicht sagen. Es ist denkbar, daß die residuale Mortalität innerhalb der *lpm/lpm*-Tiere relativ groß ist und daß die wenigen Letalen aus

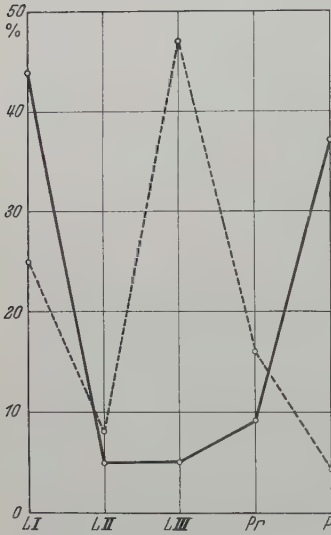


Abb. 9

Abb. 9. Prozentuale Verteilung (Ordinate) der Letalen aus 2 Selektionsstämmen auf die einzelnen Absterbestadien (Abszisse). — Stamm D ( $n = 405$ ), nach 8 Generationen Selektion auf pupale Letalität; --- Stamm F ( $n = 158$ ), Selektion auf larvale Letalität

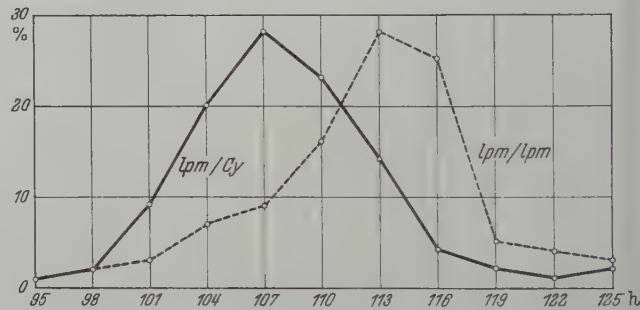


Abb. 10

Abb. 10. Entwicklungsgeschwindigkeit von *lpm/Cy*- ( $n = 212$ ) und *lpm/lpm*-Tieren ( $n = 58$ ) bis zur Pupariumbildung. Abszisse: Zeit nach Eiablage bis zur Verpuppung; Ordinate: Anzahl der Fälle in Prozent

Weil in einzelnen Zuchten jedoch phasenspezifisches Absterben festgestellt werden konnte (Abb. 8, Zuchten I und VI), wurden Selektionsversuche unternommen, um nach Möglichkeit zwei unterschiedliche Stämme zu züchten: 1. einen Stamm, in dem alle homozygoten *lpm*-Tiere als Larven sterben und 2. einen Stamm, der nur Pr- und P-Letale liefert. Abb. 9 stellt den Erfolg dieser Selektion nach 8 Generationen dar. Stamm D (Selektion auf P-Letalität) zeigt in den Durchschnittswerten eine recht deutliche Zweiphasigkeit (LI und Pr/P), wobei die Letalen in LII und LIII wahrscheinlich als Folge der residualen Mortalität betrachtet werden können. Der Stamm F, der auf L-Letalität ausgelesen wurde, erreicht mindestens einen hohen Gipfel in LIII. Einphasige Letalität konnte in beiden Stämmen nie erreicht werden (Selektion bis zur 12. Generation).

c) Entwicklungsgeschwindigkeit von *lpm*-Larven. Um eventuelle Unterschiede in der Entwicklungsgeschwindigkeit von Normal- und Letaltieren festzustellen, wurde in *lpm/Cy*-Zuchten die Entwicklungszeit von der Eiablage bis zur Verpuppung von *lpm*- und +-Tieren bestimmt. Zu diesem Zwecke mußten aus Zuchten, deren Eier aus 2 Std-Gelegen stammten, alle 3 Std die frisch



gebildeten Präpuppen herausgelesen und die Zahl der normalen und letalen Tiere bestimmt werden. Auf 212 Normaltiere entfielen 58 Letaltiere. Während die Puparisierungsrate der Normaltiere in der 107. Std ihr Maximum erreicht, liegt dieses für Letale erst in der 113. Std (Abb. 10). Die mittlere Entwicklungszeit bis zur Verpuppung beträgt für *lpm/Cy*-Tiere  $107,8 \pm 0,96$  Std, für *lpm/lpm*-Tiere aber  $112,5 \pm 2,04$  Std. Diese Unterschiede in der Entwicklung sind bei einem  $P < 0,05$  eben noch statistisch gesichert. Eine deutlich verschiedene Entwicklungszeit für normale und letale Larven ist aber nicht festzustellen.

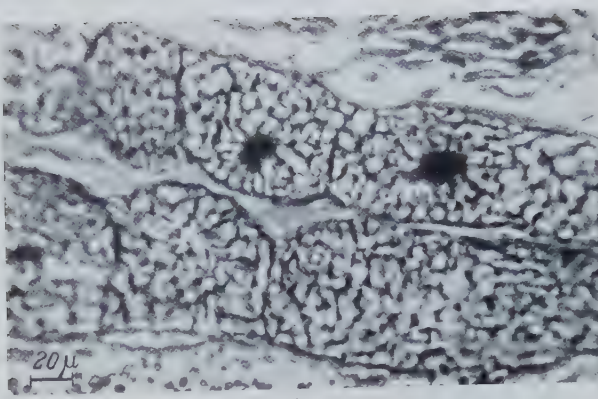
### 3. Die morphologischen Phäne

a) **Letale Larven.** Im vorhergehenden Abschnitt wird dargelegt, daß viele *lpm*-Tiere bereits als Larven sterben. Tote *lpm*-Larven des 1. und 2. Stadiums unterscheiden sich kaum von normalen Tieren der gleichen Entwicklungsstufe. Im 3. Larvenstadium lassen sich viele letale Larven ohne Mühe von normalen Geschwistern unterscheiden. Zum Teil sind sie nur so groß wie Larven des 2. Stadiums, und nur die Größe des Cephalopharyngealskelettes zeigt, daß sie die 2. Larvenhäutung bereits hinter sich haben. Bei diesen Tieren ist der Fettkörper stark reduziert, so daß die Tiere durchsichtig erscheinen. Andere letale Larven erreichen annähernd die Größe normaler Larven von 78 Std oder gar diejenige migrierender Larven (S. 85); sie unterscheiden sich aber von normalen Tieren ebenfalls durch Reduktion des Fettkörpers und durch geringeren Muskeltonus. Solche Tiere wirken mager und schlaff; sie sterben ausnahmslos im Larvenstadium. Eine 3. Gruppe von letalen Larven zeigt äußerlich keine Unterschiede zu gleichalterigen Normaltieren. Ein Teil dieser Tiere entwickelt sich später zu *lpm*-Puppen; der Rest aber stirbt noch larval. Fast ausnahmslos sind bei diesen Tieren die Mündungen der Hinterstigmen nicht von der Körperoberfläche abgehoben, was dem Phän: „nicht ausgestülpte Hinterstigmen“ bei *lpm*-Puparien (S. 104) entspricht. Die Stigmen liegen dann auch sehr nahe beisammen, und oft ist das Integument eines oder beider Stigmen schwarz und tumorartig verbildet. Solche Stigmen haben dann keine, oder nur eine geringe Öffnung (S. 100). Die Luftzirkulation in den zugehörigen Tracheenstämmen ist wahrscheinlich erheblich reduziert.

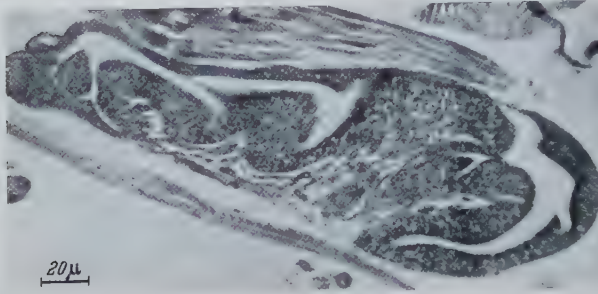
b) **Anatomie und Histologie der *lpm*-Larven.** Auch *lpm*-Larven, die Puparien bilden können, müssen geschädigt sein, da sie sich vor der 3. Häutung nicht stark kontrahieren können. Ein Vergleich von Längsschnitten durch letale und normale Larven mußte zeigen, inwiefern die *lpm*-Anatomie abnorm ist. Zudem wurden

Tabelle 8. Zusammenstellung der Masse (in Mikrometereinheiten) einiger Organe, die in *lpm/Cy*- und *lpm/lpm*-Larven keine statistisch gesicherte Größenunterschiede aufweisen

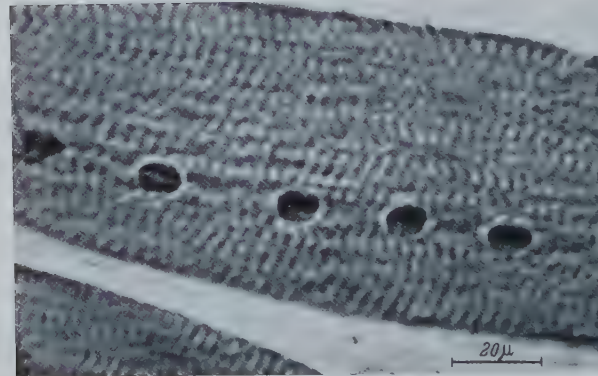
	<i>lpm/Cy</i> -Larven		<i>lpm/lpm</i> -Larven	
	n	Meßeinheit	n	Meßeinheit
Proventrikel-Länge . . . . .	6	$18,5 \pm 0,54$	15	$17,7 \pm 0,54$
Proventrikel-Breite . . . . .	6	$12,5 \pm 1,10$	15	$10,3 \pm 0,56$
Magen (größter Durchmesser) . . . .	5	$20,2 \pm 0,80$	12	$19,9 \pm 1,35$
Mitteldarm (größter Durchmesser) . .	5	$16,8 \pm 1,04$	12	$17,0 \pm 0,65$
Gehirn (Hemisphären-Durchmesser)	5	$17,6 \pm 0,40$	13	$17,3 \pm 0,60$
Verbundganglion (Länge) . . . . .	5	$32,7 \pm 1,50$	10	$32,4 \pm 1,49$



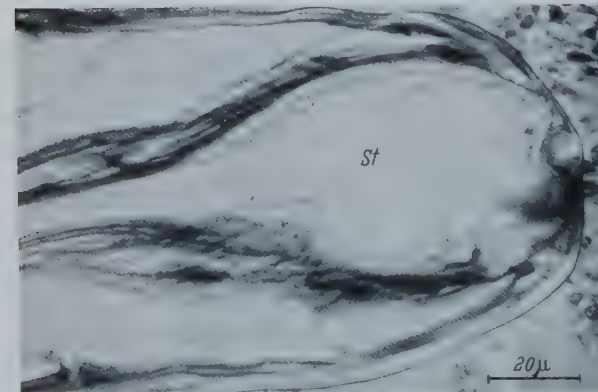
Aa



Ab

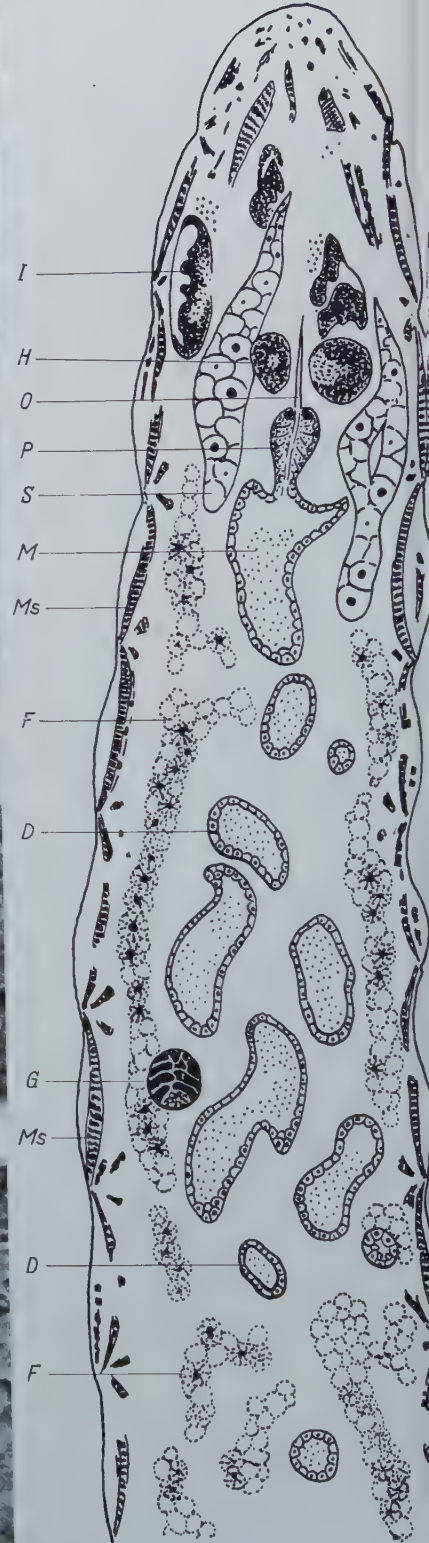


Ac



Ad

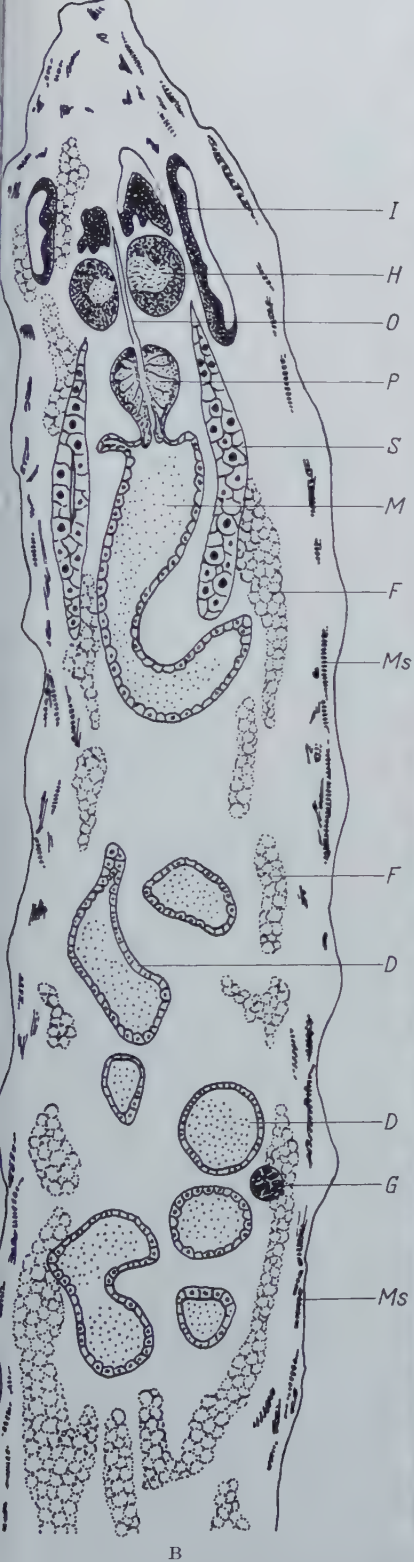
Abb. 11 Aa—Ad



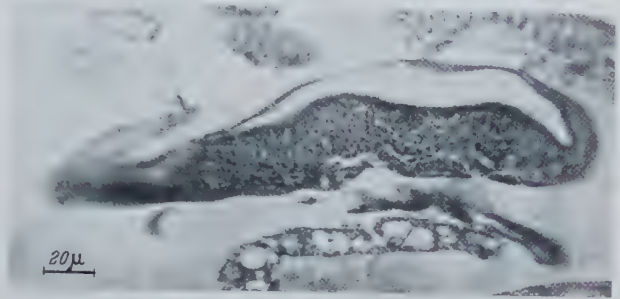
A

Abb. 11. Übersicht über die Larvenphänie. A Längsschnitt durch normale Larve, etwas schematisiert; B Längsschnitt durch *lpm*-Larve. Daneben Photographien einiger Larvenorgane; Aa und Ba Normale bzw. *lpm*-Speicheldrüse; Ab und Bb Normale bzw. *lpm*-Beinimaginalscheibe; Ac und Bc Normale

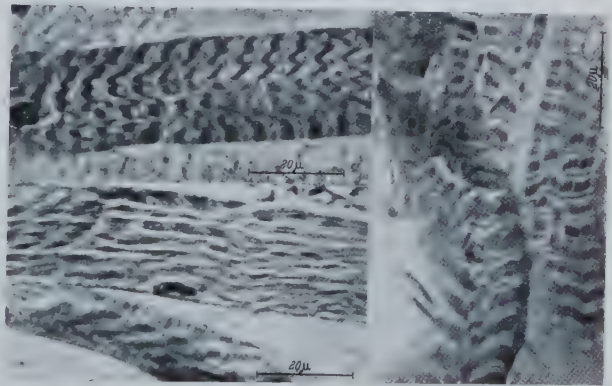




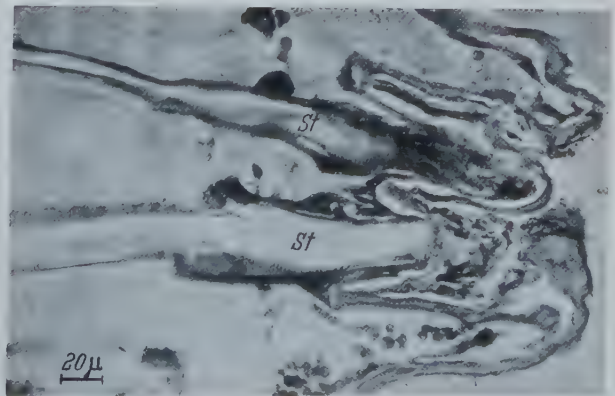
Ba



Bb



Bc



Bd

Abb. 11 Ba—Bd

bzw. *lpm*-Muskulatur; Ad und Bd Normale bzw. *lpm*-Hinterstigmen. I Imaginalscheibe, H Gehirn, O Oesophagus, P Proventrikel, S Speicheldrüse, M Magen, F Fettkörper, D Darm, G Gonade, Ms Muskulatur, St Stigma



viele normale und letale Larven in physiologischer Lösung seziiert und ihre Organe verglichen und zum Teil gemessen. Letale Larven haben den gleichen Längen-Breiten-Index wie Normaltiere ( $5,0$  in maximal ausgestrecktem Zustand), sind aber etwas kleiner (Länge von Normalen  $= 100,0 \pm 1,89$ , von Letalen  $= 86,1 \pm 1,09$  Mikrometereinheiten). Die Organe, die keine oder nur geringe meßbare Unterschiede zwischen *lpm*/Cy- und *lpm*/*lpm*-Larven aufweisen, sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Im Nervensystem konnten zwischen *lpm*- und Normal-Larven keine morphologischen und histologischen Unterschiede festgestellt werden. Die Lymphdrüsen der Letalen sind normal ausgebildet. Hämolymphe-Ausstriche aus *lpm*- und Normal-Larven zeigen keine Unterschiede in der Form der Blutzellen. Die Zahl der Blutzellen wurde indessen nicht bestimmt, doch scheinen in den Ausstrichen die verschiedenen Zelltypen in *lpm*- und Normal-Larven in gleichen Verhältnissen vorhanden zu sein.

Der Darmtraktus der *lpm*-Tiere ist äußerlich normal entwickelt, doch findet man in Schnittpräparaten von *lpm*-Larven oft keine, oder nur eine schwach ausgebildete Bürstenschicht des Mitteldarmes. Im Enddarm sind die Zellen oft in Auflösung begriffen; pyknotische Kerne sind in dieser Region gehäuft. Eventuell handelt es sich bei solchen Tieren um L IIIe/Pr.-, Grenzletale“.

Die Speicheldrüsen sind in Letalen etwas kleiner als in Normalen. Messungen an frischen, herauspräparierten Drüsen ergaben für Letale ( $n=20$ ) eine durchschnittliche Länge von  $78,3 \pm 2,5$  und eine Breite von  $11,75 \pm 0,33$  Mikrometereinheiten. Die entsprechenden Maße für neun normale Speicheldrüsen sind: Länge  $89,7 \pm 3,5$  und Breite  $14,5 \pm 0,9$ . Auf Schnittpräparaten ist das Lumen der letalen Speicheldrüsen meistens sehr klein, oder es ist überhaupt nicht zu finden. Dagegen ist das Lumen in normalen Speicheldrüsen immer vorhanden und oft bis 5mal weiter als das in *lpm*-Drüsen festgestellte größte Lumen (Abb. 11Aa und Ba). Die Anzahl der Zellen wurde nicht bestimmt.

Der Fettkörper ist in letalen Larven etwas reduziert. Zum Teil findet man eine Auflösung der blasig schwammigen Struktur in den Letalen. Der letale Fettkörper kann aber auch normal erscheinen.

Die Imaginalscheiben sind meistens normal entwickelt. Hin und wieder findet man aber auch abnormal in die Länge gezogene, nicht gefaltete Beinscheiben (Abb. 11Bb).

*Die Muskulatur der lpm-Larven ist sehr stark reduziert* (Abb. 11B), dagegen sind die Fasern meist normal quergestreift. Die *lpm*-Muskelkerne sind oft aufgebläht und enthalten pyknotische Einschlüsse. Viele Muskeln sind, wie in Abb. 11Bc, lang ausgestreckt, die Bänder also weit auseinandergezogen (geringer Muskeltonus). Einzelne Muskeln sind zudem in kleinere Faserbündel aufgelöst.

Die Hinterstigmen der *lpm*-Larven liegen viel häufiger sehr eng beisammen als bei Normal-Larven (vgl. auch S. 97). In Schnittserien läßt sich zudem feststellen, daß bei 4 von 15 *lpm*-Larven mindestens ein Hinterstigma total verschlossen ist, während bei Normal-Larven nie dergleichen beobachtet werden konnte. Dazu tritt am Hinterende der *lpm*-Larven oft eine extrem starke Sklerotisierung der Hypodermis auf, wobei meistens Zellen mit melanotischen Kernen in die verhärtete Körperwand eingeschlossen werden. Ob es sich bei diesen Phänomenen um eine Wirkung des *lpm*-Faktors handelt, bleibt allerdings fraglich,

da zu Beginn der Untersuchung im *lpm*-Stamm diese Erscheinung nur ganz selten beobachtet worden ist.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß durch die Wirkung des *lpm*-Faktors vor allem die Muskulatur, die Speicheldrüsen und der Fettkörper morphologische Veränderungen erleiden. Aus dem Vergleich der Körpergrößen mit den Werten der Tabelle 8 ergibt sich, daß die relativ kleinere Körpermasse der Letalen vor allem eine Folge der Muskel- und Fettkörper-Reduktion sein muß.

c) **Letale Pseudopuppen.** *lpm*-Tiere, welche die Pupa-ri-sie-rung-shäutung durchgemacht haben, bleiben oft auf diesem Entwicklungsstadium stehen, ohne sich je zur Puppe zu häuten. Solche Pseudopuppen sind lang und schmal (Abb. 7) und oft haben sie nicht alle, oder sogar keine Stigmen ausgestülpt. Interessant ist, daß bei einseitiger Ausstülpung der Vorderstigmen die Puparien oft gekrümmt sind und zwar nach der normalen Seite hin (Abb. 7D). Der Entwicklungsstillstand von Präpuppen kann entweder sofort nach der Pupariumbildung oder erst etwas später eintreten. Sehr oft wachsen z. B. noch die Extremitäten etwas aus. Normalerweise kontrahiert sich die Präpuppe kurz vor der Puppenhäutung. Diese Kontraktion tritt bei den meisten Pseudopuppen nicht ein.

Wägungen haben ergeben, daß letale Vorpuppen etwas leichter sind als normale Präpuppen aus der gleichen Zuchtschale (+/+  $1,273 \pm 0,024$  mg; *lpm/lpm*  $1,107 \pm 0,025$  mg). Die Unterschiede sind statistisch gut gesichert. Das Trockengewicht der Präpuppen beider Genotypen entspricht rund 37% des Frischgewichtes.

d) **Letale Puppen.** Viele *lpm*-Tiere erreichen das Puppenstadium. Die Form ihres Pupariums ist gleich wie bei Pseudopuppen (Abb. 7). Innerhalb der Gruppe der letalen Puppen können wir verschiedene Typen unterscheiden.

α) *Standard-lpm-Puppen.* Als Standard-*lpm*-Puppen werden diejenigen Tiere bezeichnet, die Extremitäten und Kopf normal ausgestülpt haben, d. h. eine vollständige Puppenhäutung durchgemacht haben. Ein Teil dieser Tiere stirbt sofort nach der Puppenhäutung. Kopf und Thorax sind dann von normaler Form und Größe; das Abdomen dieser Letalen ist länger und schmaler als bei normalen Tieren gleicher Entwicklungsstufe. Die Augen bleiben aber unpigmentiert und die Cuticula ist nicht imaginal differenziert.

Weitaus der größere Teil der *lpm*-Puppen entwickelt sich dagegen weiter. Diese Tiere erreichen alle einen äußerlich normal ausdifferenzierten Thorax und Kopf. Im Innern ist das Gehirn normal entwickelt; die Muskulatur aber ist mehr oder weniger stark reduziert (Abb. 12), und vor allem wird die Flugmuskulatur betroffen, die manchmal ganz fehlt. An ihrer Stelle finden sich amorphe und zum Teil verflüssigte Gewebmassen. Das Abdomen ist von Tier zu Tier äußerst verschieden differenziert. In vielen Fällen ist das Integument des Abdomens nicht metamorphosiert, d. h. es trägt keine Borsten und ist nicht pigmentiert („Pupales Abdomen“ nach GLOOR 1945). Manchmal werden zwar Borsten gebildet, aber die Pigmentierung unterbleibt, und schließlich gibt es auch Tiere, deren abdominales Integument ebenso stark ausgefärbt ist wie dasjenige 10 Std alter Normal-Imagines. Dies zeigt deutlich, daß sich das Integument solcher Tiere im Puparium drin bis über die Schlüpfreife hinaus differenzieren kann. In solchen Fällen ist somit das Ek+oderm voll entwicklungsfähig,

und wenn die zum Schlüpfen notwendige Muskulatur vorhanden wäre, müßten diese Tiere Durchbrenner ergeben.

Um festzustellen, ob zwischen äußerer und innerer Differenzierung des Abdomens eine Beziehung bestehe, wurde der Differenzierungsgrad verschiedener Organe untersucht (Tabelle 9). GLOOR (1945) bezeichnet Ovarien, deren Ei-



Abb. 12 A-F. Kopf-, Thorax- und Abdomenmuskulatur normaler und letaler Fliegen, halbschematisch nach Photographien von Puppenlängsschnitten. A, D normale Tiere; B, C, E, F lpm-Tiere; HF horizontale Flugmuskulatur; VF vertikale Flugmuskulatur; AM Abdominalmuskulatur

schläuche Eikammern enthalten als imaginal, Ovarien ohne Eikammern als pupal: Spermatheken sind imaginal chitiniert, pupal nicht, und schließlich gilt der Darm als pupal, wenn er mit dem Gelbkörper gefüllt ist, als imaginal, wenn er zudem noch ausgebildete Rektalpapillen besitzt. Die Angaben der Tabelle 9 stützen sich auf diese Kriterien.

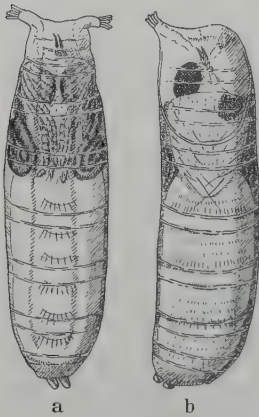


Abb. 13a u. b. a Kryptocephale Puppe mit Krüppelbeinen (Ventralansicht); b halbseitig kryptocephale Puppe (Dorsalansicht)

Tabelle 9. Analyse des Differenzierungsgrades verschiedener innerer Organe und des Integumentes des weiblichen lpm-Abdomens

Die zur Analyse verwendeten Kriterien sind im Text erwähnt. Die Differenzierungsgrade der inneren Organe werden mit dem Differenzierungsgrad des Integumentes verglichen.

Verglichene Organe	Imaginales Abdomen mit Borsten und Pigment			Pupales Abdomen ohne Borsten und Pigment		
	imaginal %	pupal %	Fälle	imaginal %	pupal %	Fälle
Äußere Genitalien .	100	—	50	50	50	36
Ovarien . . . . .	57	43	28	—	100	14
Spermatheken . .	100	—	22	15	85	14
Darm . . . . .	96	4	50	11	89	36

Tabelle 9 zeigt, daß Spermatheken und Darm sich mehr oder weniger gleich stark ausdifferenzieren wie das Integument. Die äußeren Genitalien sind relativ unempfindlich und differenzieren sich zum Teil weiter aus als das übrige Integument. Nach BODENSTEIN (1950) ist die Metamorphose der Genitalscheibe viel früher vollendet als der Rest des imaginalen Integumentes. Dasselbe haben SOBELS und NIJENHUIS (1953) für mit Sauerstoff behandelte *letal-translucida*-Puppen festgestellt. Umgekehrt ist die Entwicklung der Ovarien stark zurückgeblieben. Sehr ähnliche Resultate erhielten GLOOR (1945) für den Letalfaktor *cryptocephal* und FABER, SOBELS et al. (1954) für den Faktor *lethal-non-evaginated*.



Da die verschiedenen untersuchten Organe sich verschieden rasch differenzieren, darf aus den Resultaten der Tabelle 9 der Schluß gezogen werden, daß beim Tod eines *lpm*-Tieres alle Organe ungefähr gleichzeitig an der weiteren Ausdifferenzierung gehemmt werden.

β) *lpm*-Puppen mit Krüppelbeinen. Diese Puppen entsprechen in allen Merkmalen den Standard-*lpm*-Puppen, aber die Beine sind bei diesen Tieren mehr oder weniger unvollständig ausgestülpt und daher verküppelt. Femur und Tibia sind verkürzt und oft verkrümmt (Abb. 13a).

γ) *Kryptocephalie*. In den kryptocephalen Puppen finden wir scheinbar kopflose, sonst aber mehr oder weniger vollständig ausdifferenzierte Imagines (Abb. 13a). Es ist leicht festzustellen, daß alle Organe des Kopfes ausgebildet sind, sich aber im Innern des Thorax befinden. Der Kopf ist also am Ende des Vorpuppenstadiums nicht ausgestülpt worden, hat sich aber trotzdem imaginal differenziert. Die Augen, Antennen usw. liegen verkehrt im Innern des Kopfsackes; so liegt z. B. der Vorderrand der Augen hinten und ihre Außenfläche nach innen zu. Hin und wieder ist der Kopfsack umgestülpt, aber nicht ausgestülpt worden. Die Kopforgane sind dann richtig orientiert (z. B. Außenseite der Augen außen); der Kopf jedoch befindet sich noch im Innern des Thorax. Bei solchen Tieren ist es oft möglich, den Kopf durch sanftes Drücken auf den Thorax ganz herauszupressen. In wenigen, schwach expressiven Fällen der Kryptocephalie ist der Kopf fast vollständig ausgestülpt, erreicht aber nicht die normale Größe (Mikrocephalie). Bei einzelnen Tieren ist der Kopf nur halbseitig aus dem Thorax ausgepreßt worden (Abb. 13b).

Dieses Phänomen ist oft mit einseitiger Stigmenausstülpung der Puparien kombiniert.

Der Thorax der Kryptocephalen ist nur äußerlich normal gebaut, die Muskulatur dagegen stark reduziert oder überhaupt nicht zu finden. Das Abdomen zeigt keine Unterschiede zu Standard-*lpm*-Abdomen (S. 101). Sehr ähnliche Phäne hat GLOOR (1945) für den Faktor *cryptocephal* (*cre*, 2—55 ±) beschrieben.

δ) *Kombinationstypen*. Neben den erwähnten reinen Mißbildungstypen kommen sehr häufig Kombinationen vor. So treten die Phäne der Mikrocephalie und der Kryptocephalie meistens gemeinsam mit Krüppelbeinen auf. Wie die nachfolgende Übersicht zeigt, ist die Kombination „Kryptocephalie + Krüppelbeine“ häufiger als alle anderen Mißbildungstypen; in einzelnen Stämmen treffen wir „Kryptocephalie + Krüppelbeine“ sogar häufiger als Standard-*lpm*-Puppen.

ε) *Übersicht über die Puppenphäne*. Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die verlängerte, schmale Puparienform in 100% der Fälle auftritt. Innerhalb der Phärenreihe: Stigmen ausgestülpt (Abb. 14A), Vorderstigmen nicht

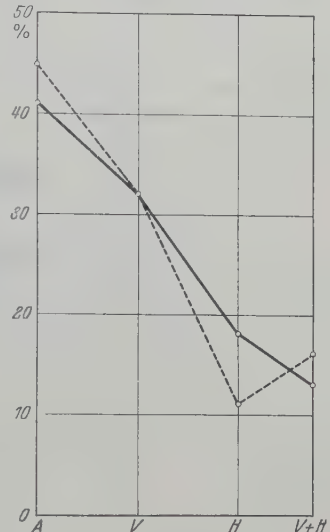


Abb. 14. Prozentuale Verteilung der *lpm*-Puparien auf verschiedene Expressivitätstypen. Die beiden Kurven repräsentieren Resultate von zwei verschiedenen Stämmen. A alle Stigmen ausgestülpt (Standardpuparium); V Vorderstigmen nicht ausgestülpt; H Hinterstigmen nicht ausgestülpt; V + H Vorder- und Hinterstigmen nicht ausgestülpt. Ordinate = Anzahl der Fälle in Prozent

ausgestülpt (V), Hinterstigmen nicht ausgestülpt (H), keine Stigmen ausgestülpt (V + H), finden wir eine mit Zunahme der Expressivität fallende Anzahl von Tieren.

Innerhalb der gebildeten Puppen haben wir ein mannigfaltiges Gemisch der verschiedensten Schädigungsmuster. Das Verhältnis von Standard-*lpm*-Puppen zu „Mißbildungen“ ist variabel. Während im Stamm A, dem Ausgangsstamm dieser Untersuchungen, Standard-*lpm*-Puppen noch doppelt so häufig auftraten wie „Mißbildungen“, ist dieses Verhältnis in später herausgezüchteten Stämmen zu Ungunsten der Standard-Puppen verschoben worden. In Abb. 15 sind die Zahlen der einzelnen Phänotypen graphisch dargestellt worden. Kryptocephalie und Mikrocephalie ohne Krüppelbeine kommen selten vor und wurden deshalb

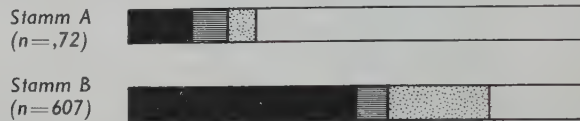


Abb. 15. Prozentuale Verteilung der im Text beschriebenen *lpm*-Puppentypen in zwei verschiedenen Stämmen. Schwarz = Kryptocephal + Krüppelbeine; schraffiert = Mikrocephal + Krüppelbeine; punktiert = nur Krüppelbeine; leeres Feld = Standard-*lpm*-Puppen

in der Abbildung nicht berücksichtigt. Die Abbildung zeigt vor allem, daß im Stamm B der Kombinationstyp „Kryptocephalie + Krüppelbeine“ so häufig auftritt wie alle andern Typen zusammen (s. Expressivität S. 107).

#### 4. Physiologische Phäne

a) **Leistung der *lpm*-Muskulatur.** Wie bereits gesagt wurde, ist der Muskeltonus der *lpm*-Larven oft schwach, was die Tiere schlaff erscheinen läßt. Individuen, bei denen dieses Phän sehr stark ausgeprägt ist, verpuppen sich meistens nicht. Kommt es aber zur Puparisierung, so stellen wir wieder etwas Ähnliches fest: da sich die *lpm*-Larven nicht stark kontrahieren, werden die Puparien lang und schmal gebildet. Messungen der Kriechgeschwindigkeit von *lpm*- und Normal-Larven auf nassem Filterpapier haben gezeigt, daß *lpm*-Larven, der Reduktion ihrer Muskulatur entsprechend, in ihrer Geschwindigkeit beschränkt sind. Die mittlere Kriechgeschwindigkeit von 10 *lpm/Cy*-Larven betrug bei Zimmertemperatur  $32,6 \pm 2,0$  mm/min, diejenige von 10 *lpm/lpm*-Larven dagegen  $19,9 \pm 1,03$  mm/min.

Läßt man Larven aus *lpm/Cy*-Zuchten ein „Wettrennen“ austragen, indem man etwa 20 Larven (Mischung der Genotypen *lpm/Cy* und *lpm/lpm*) in das Zentrum eines Kreises von 4 cm Durchmesser setzt und nach 1 min alle Larven, die sich außerhalb des Kreises befinden, von den Larven, die noch innerhalb kriechen, separiert, zeigt sich nach der Verpuppung, daß die *lpm*-Tiere vor allem in der Fraktion der langsamen Tiere zu finden sind (Fraktion der raschen Tiere = 116 Normale und 12 Letale; Fraktion der langsamen Tiere = 13 Normale und 74 Letale).

b) **Veränderung der Eiweißbausteine in der Mutante.** Es darf erwartet werden, daß die starke Reduktion der Muskulatur in *lpm*-Tieren von Stoffwechselstörungen begleitet ist. Mit Hilfe der Papierchromatographie wurden die verschiedenen

Eiweißbausteine aus Larven und Präpuppen der Genotypen  $+cn\ bw/+cn\ bw$  und  $lpm\ cn\ bw/lpm\ cn\ bw$  vergleichsweise quantitativ erfaßt. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Abb. 16 graphisch dargestellt.

Aus Abb. 16a geht hervor, daß in *lpm*-Larven ohne Zweifel eine sehr starke Störung des Eiweißstoffwechsels manifest ist. Die letalen Larven enthalten die meisten Aminosäuren (ausgenommen Asparaginsäure und  $\alpha$ -Alanin) in bedeutend höheren Konzentrationen als die Normaltiere. Dasselbe gilt für die Polypeptide Drosophilin und Präpupin, während das Polypeptid Larvin 2 in Letalen schwächer vertreten ist als in Normaltieren. Aus dem Stoffinventar der letalen Larven gewinnt man den Eindruck, daß die Entwicklung dieser Tiere der Entwicklung der Normaltiere stark nachhinke, und daß in den letalen Larven die freien Eiweißbausteine, die ja in Larven des mittleren 3. Stadiums in größten Mengen vorkommen (BENZ 1955), erst verspätet eingebaut werden.

Abb. 16b zeigt uns, daß die frisch gebildeten letalen Vorpuppen sich in den freien Eiweißbausteinen nicht sehr stark von normalen Präpuppen unterscheiden. Interessant ist, daß die Polypeptide Präpupin und Drosophilin, die in normalen Tieren während der Verpuppung zunehmen, in den Letalen abnehmen. Glutamin kommt wieder in normaler Konzentration vor; wahrscheinlich sind die Abbau-

vorgänge zum Abschluß gekommen. Glycin und Threonin, die in letalen Larven in abnorm großen Konzentrationen vorkommen (vgl. S. 91 und 93), sind in den jungen Präpuppen auch normal vertreten.

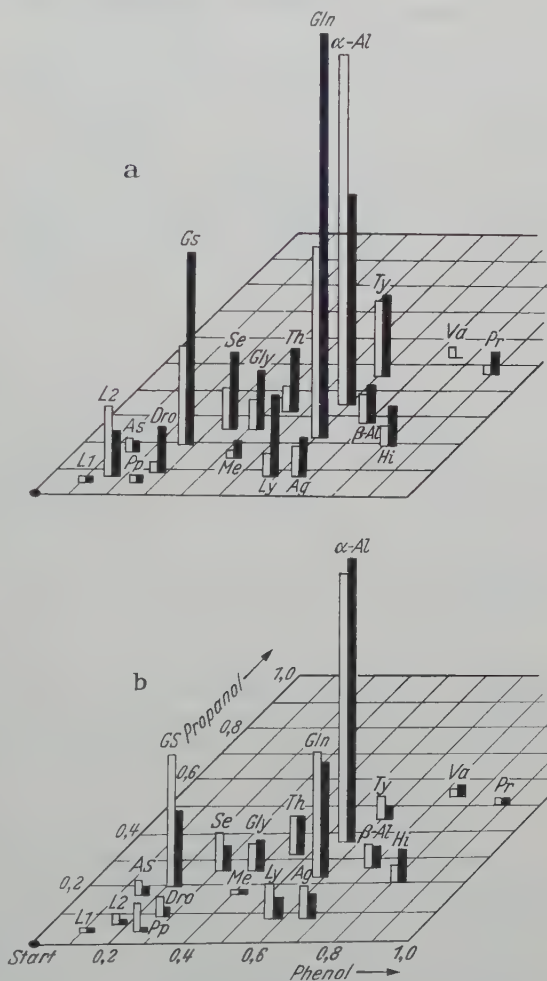


Abb. 16a u. b. Chromatographische Verteilung und relative Quantität von Eiweißbausteinen aus normalen (weiße Säulen) und *lpm*-Tieren (schwarze Säulen). Die Höhe der Säulen entspricht den gemessenen Extinktionswerten aus je 8 Chromatogrammen. a) migrierende Larven; b) Präpuppen, 4 Std nach Pupariumbildung. *L1* Larvin 1; *L2* Larvin 2; *Pp* Präpupin; *Dro* Drosophilin; *AS* Asparaginsäure; *GS* Glutaminsäure; *Se* Serin; *Gly* Glycin; *Me* Metamorphin; *Th* Threonin; *Gln* Glutamin; *Ly* Lysin; *Ag* Arginin;  $\alpha-Al$   $\alpha$ -Alanin;  $\beta-Al$   $\beta$ -Alanin; *Ty* Tyrosin; *Hi* Histidin; *Va* Valin; *Pr* Prolin. Im übrigen gelten die Bezeichnungen der Abb. b auch für die Abb. a



Ältere *lpm*-Präpuppen (etwa 8 Std nach Puparisierung) zeigen nur für 5 Eiweißbausteine quantitative Unterschiede im Vergleich mit gleichalterigen Normaltieren. Die betreffenden Stoffe sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Tabelle 10. *Extinktionswerte derjenigen ninhydrinpositiven Substanzen aus 8 Std alten Präpuppen, die statistisch gesicherte Unterschiede ( $P < 0,05$ ) zwischen + cn bw/+ cn bw- und lpm cn bw/lpm cn bw-Tieren zeigen*

Substanz	+ cn bw-Tiere	<i>lpm</i> cn bw-Tiere	d
Präpupin. .	0,0780 $\pm$ 0,0070	0,0266 $\pm$ 0,0031	0,0514
Drosophilin. .	0,0672 $\pm$ 0,0075	0,0955 $\pm$ 0,0061	0,0283
$\alpha$ -Alanin . .	0,1568 $\pm$ 0,0186	0,2437 $\pm$ 0,0253	0,0869
Histidin . .	0,0635 $\pm$ 0,0065	0,1020 $\pm$ 0,0044	0,0403
Valin . . .	0,0276 $\pm$ 0,0129	0,0587 $\pm$ 0,0063	0,0311

### 5. Phänokopien

Aus Euchinin-Versuchen beim *lbl*-Faktor (S. 89) hat sich zufällig ergeben, daß mit diesem Chemikaliu ähnliche Phänotypen hervorgerufen werden können, wie wir sie für den *lpm*-Faktor kennengelernt haben. Werden normale Larven des 3. Stadiums

auf Futter mit 0,1% Euchinin gesetzt, so verpuppen sie sich sehr ähnlich wie *lpm*-Tiere. Die Puparien dieser Phänokopien sind ebenfalls lang und schmal, und ihre Stigmen sind teilweise nicht oder unvollständig ausgestülpt. Bei 50% der Tiere erfolgt der Tod während irgendeiner präpupalen oder pupalen Entwicklungsphase. Die restlichen Individuen phänokopieren zwar äußerlich die *lpm*-Merkmale, entwickeln sich aber vollständig und schlüpfen.

Eine *lpm*-ähnliche Phänokopie ist von BERTSCHMANN (1955) beschrieben worden. Sie wurde durch Injektion von Nitrogen-Mustard in Larven des 3. Stadiums erreicht.

Bei diesen Phänokopieexperimenten sind wahrscheinlich nur morphologische Kopien des *lpm*-Faktors entstanden. Wie CHEN und HADORN (1955) am Letalfaktor *lme* (vgl. S. 92) gezeigt haben, braucht aber eine morphologisch getreue Phänokopie in den biochemischen Phänen nicht mit der verglichenen Mutante übereinzustimmen, d. h. eine morphologische Phänokopie ist nicht unbedingt eine echte Phänokopie.

### 6. Penetranz und Expressivität von *lpm*

a) **Zur Penetranz.** Die Penetranz von *lpm* ist variabel. Gewöhnlich sind alle homozygoten *lpm*-Tiere letal (Tabelle 11). Der Stamm D' liefert 1—2% Durchbrenner. Durch starke Selektion ist es gelungen, einen Durchbrennerstamm zu züchten, in dem der *lpm*-Faktor nicht mehr sichtbar zur Auswirkung kommt. Bei diesen Tieren ist nicht etwa zufällig der *lpm*-Faktor verlorengegangen oder rückmutiert; denn Auskreuzungen mit *lpm/Cy*-Tieren der gewöhnlichen Stämme lieferten letale Nachkommen. Im Durchbrennerstamm überdecken wahrscheinlich genische Modifikatoren die Wirkung des *lpm*-Faktors.

Kleinere Penetranzänderungen, wie sie im Stamm D' vorkommen, sind sicher durch wenige Modifikatoren bedingt. So hatte das Auswechseln des 3. Chromosoms von Stamm D' durch ein anderes, markiertes Chromosom eine Erhöhung der Penetranz auf 100% zur Folge. Ähnlich, allerdings im imgekehrten Sinn, hat sich das Auskreuzen des *lpm/Cy*-Stammes mit Wild-Tieren ausgewirkt. Während die *lpm/Cy*-Tiere 53% Letale lieferten (Erwartung 50%), fanden sich unter den Nachkommen von *lpm/+*-Tieren nur 17% Letale (Erwartung 25%, S. 94). Wahrscheinlich sind bei der Auskreuzung mit dem Wild-Stamm Modifikatorgene eingekreuzt worden.

b) **Expressivität.** Auch die sehr variable Expressivität des *lpm*-Faktors ist teilweise genetisch bedingt. Ein Vergleich der Absterbezeiten der *lpm*-Tiere verschiedener Stämme zeigt eine von Stamm zu Stamm unregelmäßig variierende Lebensdauer der *lpm*-Tiere. Tabelle 11 liefert eine Übersicht über verschiedene Expressivitätsstufen einiger untersuchter Stämme (vgl. auch Abb. 15).

Stamm A, mit der genetischen Konstitution *lpm/Cy cn*, ist Ausgangsstamm dieser Untersuchungen. Durch Markierung des *lpm*-tragenden 2. Chromosoms mit den Genen *cn* und *bw* wurde Stamm B erhalten. Das *lpm*-tragende Chromosom der B-Tiere trägt also einen stammfremden, rechten Schenkel. Wie groß der Materialaustausch zwischen den übrigen Chromosomen war, ist nicht bestimmt worden. Der Stamm B konstituiert sich aus den Nachkommen eines einzigen Paares. Alle übrigen Stämme in Tabelle 11 wurden aus Stamm B herausgezüchtet.

Wie bereits erwähnt worden ist, wurde in Stamm D' das 3. Chromosom durch ein mit *h p<sup>p</sup> ss e<sup>s</sup>* markiertes ersetzt. Der neue Stamm D'' besitzt also die genetische Konstitution *lpm cn bw/Cy cn+* für das 2. Chromosom und *h p<sup>p</sup> ss e<sup>s</sup>/h p<sup>p</sup> ss e<sup>s</sup>* für das 3. Chromosom.

Tabelle 12 gibt Auskunft über die Expressivitätsänderungen in den Letal-Puppen von Stamm A zu Stamm B einerseits und von Stamm D' zu Stamm D'' andererseits.

Tabelle 11. Prozentuale Verteilung der *lpm/lpm*-Tiere auf L-, Pr- und P-Letale sowie Durchbrenner in sechs verschiedenen Stämmen

Stamm	n	L-Letale %	Pr- und P-Letale %	Durchbrenner %
A	181	(38)	62	—
B	192	72	28	—
D'	241	53	46	1
E	113	61	30	—
F	160	80	20	—
G	530	2	3	95

Tabelle 12. Verhältniszahlen einiger *lpm*-Expressivitätstypen aus vier verschiedenen Stämmen

Stamm B ist durch Austausch von Chromosomenmaterial aus Stamm A und Stamm D' aus D' herausgezüchtet worden. Weitere Erklärungen im Text. Pr Präpupal-Letale, P Pupal-Letale, stand. Standard-Typ (S. 101), abnorm. nicht Standard (Abb. 7 E—G).

Stamm	n	Letalphase		Puparium		<i>lpm</i> -Imago		Mißbildungen	
		Pr	P	stand.	abnorm.	stand.	Mißb.	Kry + Kr	übr.
A	166	3	5	3	5	2	1	1	2
B	337	1	10	1	2	1	4	2	1
D'	116	1	5			1	4	2	1
D''	116	1	12			1	8	11	1

Nach der Einkreuzung stammfremden Chromosomenmaterials in Stamm A ist auf Kosten der Pr-P-Letalität eine Verschiebung der Letalphase zu L-Letalität (Tabelle 12) eingetreten. Die in Tabelle 11 eingetragene Verschiebung des Pr:P-Verhältnisses ist wahrscheinlich hierauf zurückzuführen. Zugleich ist im neuen Stamm eine Steigerung der Mißbildungen in *lpm*-Imagines im allgemeinen und der Kryptocephalen mit Krüppelbeinen (Kry + Kr) im besonderen eingetreten, also eine Verstärkung der Expressivität des Faktors.

c) **Beeinflussung von Penetranz und Expressivität durch das äußere Milieu.**

α) *Die Temperatur.* In Tabelle 13 sind die Verhältniszahlen einiger Expressivitätstypen von *lpm*-Tieren, die bei verschiedenen Temperaturen gezüchtet worden

sind, zusammengestellt. Aus der Tabelle geht hervor, daß die Expressivität des Faktors bei tieferer Temperatur geringer ist als bei höherer.

β) *Die Populationsdichte.* Die Populationsdichte beeinflusst die Zuchtergebnisse ziemlich stark. Zuchten von 50 Larven je Zuchtschale (Durchmesser 8 cm) aus Gelegen von *lpm*/+-Eltern lieferten 80 % geschlüpfte Tiere (Erwartung 75 %). Die entsprechenden Ergebnisse mit 100, 250 und 500 Tieren je Schale sind 72,

65 und 54 % geschlüpfte Fliegen.

γ) *Das Futter.* Da die Populationsdichte einen Einfluß auf die Entwicklung der *lpm*-Tiere hat, liegt es nahe, die schlechte Wirkung der Überbevölkerung durch

Tabelle 13. Zusammenstellung der Verhältniszahlen einiger Expressivitätstypen von *lpm*-Präpuppen und -Puppen, die bei 18, 20 oder 25° C gezüchtet worden sind

Untersuchtes Verhältnis	18° n = 98	20° n = 137	25° n = 91
Präpuppenzahl:Puppenzahl . . . . .	1:15	1:8	1:8
tandardpuparien:abnorme Puparien	1:3	1:1	1:3
u pal diff. Tiere:imaginal diff. Tiere	1:4	1:4	1:2

Futtermangel zu erklären. Im Laufe dieser Untersuchungen wurden viele Versuche mit verschieden zusammengestelltem Futter gemacht, um festzustellen, ob bestimmte Futterfaktoren die Entwicklung der *lpm*-Tiere begünstigen. Keinen Einfluß hatten Kohlenhydrate, Frischhefe, Trockenhefe, Casein, Ovalbumin und die verschiedensten Vitamine.

Ziemlich stark beeinflusst wird die Expressivität des *lpm*-Faktors durch ein Futter, das aus grünem Erbsmehl, Zucker, Trockenhefe und Frischhefe besteht.

Tabelle 14. Zuchtergebnisse eines *lpm*/Cy-Stammes auf Standardfutter und Standardfutter mit Zusatz von Spinat bzw. dessen Absud. Würden alle Tiere das Puppenstadium erreichen, könnten etwa 33 % letale Puppen und etwa 66 % *lpm*/Cy-Fliegen erwartet werden

Zuchten auf Standardfutter plus	Puppen	<i>lpm</i> /Cy-Tiere	Letale P.
—	218	194 = 89 %	24 = 11 %
Spinatabsud	286	211 = 74 %	75 = 26 %
Spinatblätter	313	224 = 72 %	89 = 28 %

Das Verhältnis der Standard-Puppen zu Nicht-Standard-Puppen beträgt in Kontrollen, die auf gewöhnlichem Mais-Agar-Hefefutter gehalten wurden, 1:4 (n = 231) und 1:1 (n = 207) auf Erbsmehlfutter.

Noch besser wirkte ein Zusatz von Spinat zum Futter. Dabei war es gleichgültig, ob die ganzen Spinatblätter, oder nur deren Absud zur Futterbereitung verwendet wurde. Tabelle 14 zeigt die Resultate solcher Zuchten.

Wurden Tiere während zwei aufeinanderfolgender Generationen auf Spinatfutter gezogen, so waren in der 2. Generation bis zu  $\frac{1}{3}$  der *lpm*-Tiere vital. Diese Steigerung der Durchbrennerzahl war aber nicht immer zu erreichen.

Die Interpretation dieser Zuchtergebnisse ist sehr schwierig. Es scheint sich bei den Futterfaktoren um sehr geringe Mengen vorläufig unbestimmter Stoffe zu handeln.

## 7. Diskussion der Ergebnisse

a) *Die morphologischen Phäne.* Aus den morphologischen Untersuchungen geht hervor, daß durch den *lpm*-Faktor vor allem die Muskulatur reduziert wird. Diese wird in den *lpm*-Puppen zum Teil nicht vollständig angelegt, oder sie degeneriert nachträglich, wie das in *lpm*-Larven der Fall zu sein scheint. Die Reduktion der Muskulatur und die dadurch bedingte Muskelschwäche führt, je nach der Größe des Defektes, zum polymorphen Phänotypus der *lpm*-Tiere.



Obwohl das Wirkungsmuster des Faktors sehr kompliziert erscheint, sprechen die vielgestaltigen Phänokopien mit der chemisch einheitlichen Substanz Euchinin für die Auffassung, daß mindestens die äußerlichen Phäne der Mutante gesamthaft durch die beschriebene Muskeldystrophie hervorgerufen werden. Wahrscheinlich handelt es sich bei den Euchinin-Phänokopien um eine Muskelschädigung. In jenen Fällen, wo nur die Form der *lpm*-Puppen phänokopiert worden ist (50 %), waren die Schädigungen wahrscheinlich so gering, daß sie während der Puppenzeit rückgängig gemacht werden konnten. Da zur Ausstülpung des Kopfes während der Verpuppung offenbar starke Muskeln notwendig sind, tritt bei sehr starker Reduktion der Larvenmuskulatur Kryptocephalie ein. Dieses Phän wurde von HADORN und GLOOR (1943) und GLOOR (1945) auch für den Letalfaktor *cryptocephal* (*crc*) beschrieben. GLOOR (1944) konnte die Kryptocephalie phänokopieren, wenn er 9—11 Std alte Präpuppen einem Hitze- oder Kälte-Schock aussetzte. Präpuppen häuten sich in der 11.—12. Std zur Puppe (ROBERTSON 1936) und stülpen gleichzeitig mit Hilfe von Muskeldruck den Kopf aus. Während dieses Vorgangs kontrahiert sich das Abdomen stark. Es scheint also, daß bei den Phänokopieversuchen durch den Hitze- oder Kälteschock die Muskulatur in ihrer Funktion gestört wird. Die *crc*-Tiere zeigen erst bei der eigentlichen Puppenhäutung Unterschiede zu normalen Tieren: Sie kontrahieren sich nicht und stülpen den Kopf nicht aus. Im Unterschied zu *lpm* scheint der *crc*-Locus sehr streng phasenspezifisch zu wirken.

Interessant ist, daß Krüppelbeine zu den *lpm*- wie auch zu den *crc*-Phänen gehören. Nach neueren Untersuchungen von POSSOMPÈS (mündliche Mitteilung) sollen die Beine in den Puppen nicht ausgestülpt werden, sondern auswachsen. Das Auftreten von Krüppelbeinen, d. h. abnorm kurzen und verkrümmten Beinen, als Folge einer Muskelschwächung deutet aber darauf hin, daß mindestens zur normalen Ausbildung der Beine, neben den Wachstums- und Differenzierungsvorgängen, auch eine normal entwickelte Muskulatur notwendig ist.

Ob die Reduktion der Muskulatur eine sekundäre Erscheinung der vom *lpm*-Locus ausgehenden Wirkung sei, und ob die übrigen, in *lpm*-Tieren auftretenden Reduktionserscheinungen Folgen einer gleichen, vom *lpm*-Locus ausgehenden Primärwirkung seien, oder aber ob es sich bei den letzteren Phänen um durch die Muskeldystrophie induzierte Erscheinungen handelt, kann auf Grund unserer Resultate nicht entschieden werden. Ebenfalls denkbar wäre eine primäre Funktionsschwächung des Nervensystems durch den *lpm*-Faktor. Wie NÜESCH (1952, 1954) gezeigt hat, folgt auf den Ausfall eines bestimmten Nervs während der Metamorphose von *Telea polyphemus* (*Lep. Saturniidae*) der Ausfall eines oder mehrerer zugehöriger Muskeln. In den Fällen, wo in *lpm*-Tieren einzelne Muskeln zwar gebildet, aber nur schwach entwickelt werden (Abb. 12), könnte man sich eine Unterfunktion der sonst intakten Nerven vorstellen. Diese Annahme dürfte auch die übrigen Reduktionserscheinungen in *lpm*-Tieren erklären. Das Fehlen morphologisch und histologisch feststellbarer Defekte im Gehirn, im Verbindungsganglion und in den Hauptnerven spricht nicht gegen die eben erwähnte Auffassung. Es könnte sich ja auch um eine Unterfunktion der Nervenendplatten handeln.

**b) Die physiologischen Phäne.** Die morphologischen Untersuchungen haben gezeigt, daß in *lpm*-Tieren eine stark unterentwickelte oder reduzierte Muskulatur

vorhanden ist. Die Frage stellt sich, ob wirklich, wie bereits angedeutet wurde, die in *lpm*-Larven überkonzentriert vorkommenden Eiweißbausteine nicht verwendet werden, weil keine vollwertige Muskulatur aufgebaut wird, oder ob nicht umgekehrt in *lpm*-Larven Muskeln abgebaut und die frei werdenden Eiweißbausteine vorläufig nicht wieder in andere Gewebe eingebaut werden. Abgesehen von den früh absterbenden *lpm*-Larven (L Ia und L IIIa) erscheinen die *lpm*-Tiere bis kurz vor der Letalkrise normal. Wahrscheinlich degeneriert also die *lpm*-Muskulatur mindestens zum Teil erst nachträglich. Dafür sprechen auch die histologischen Befunde (S. 100). Da die Larven des mittleren 3. Stadiums am meisten freie Aminosäuren enthalten, könnte man die erhöhte Konzentration dieser Substanzen in letalen Larven als Verspätungseffekt betrachten, d. h. die *lpm*-Larven befänden sich im Vergleich zu gleichalterigen Normaltieren noch in einem physiologisch jüngeren Entwicklungsstadium. In diesem Falle sollten *lpm*-Larven mehr  $\alpha$ -Alanin aufweisen als Normaltiere; doch ist das Gegenteil der Fall.

Eine ähnlich erhöhte Konzentration freier Eiweißbausteine im späten 3. Larvenstadium ist schon von HADORN und STUMM-ZOLLINGER (1953) und STUMM-ZOLLINGER (1954) für den Letalfaktor *ltr* nachgewiesen worden. Wie CHEN (1956) gezeigt hat, bewirkt der *ltr*-Faktor, daß gewisse Proteine der Hämolymphe nicht aufgebaut werden. Die Menge der Hämolymphe nimmt in diesen Tieren gewaltig zu, dabei bleiben der Total-Stickstoffgehalt wie auch das Trockengewicht der *ltr*-Larven ungefähr gleich wie in Normallarven. Im Gegensatz zu *ltr* bewirkt der *lpm*-Faktor in den Larven nur eine erhöhte Konzentration der Eiweißbausteine, nicht aber eine erhöhte Flüssigkeitsmenge (S. 101). Die biochemischen Phäne der *lpm*-Mutante hängen wahrscheinlich direkt mit dem Phän der Muskelreduktion zusammen. Bei den freien Aminosäuren könnte es sich mindestens zum Teil um hydrolysierte Muskelproteine handeln. Wäre der Überschuß an freien Eiweißbausteinen nur die Folge einer eingeschränkten Proteinsynthese in den Letalen, so sollten *lpm*-Larven voraussichtlich einen gleichen Aminosäurebestand wie die *ltr*-Tiere haben; *lpm* zeigt aber in viel mehr verschiedenen Eiweißbausteinen deutliche Unterschiede zu normalen Tieren. Die Resultate der vorliegenden Arbeit sind allerdings nicht direkt vergleichbar mit den Werten von STUMM-ZOLLINGER (1954), da wir nicht nur Hämolymphe, sondern Extrakte von ganzen Tieren verwendeten. In *ltr*-Hämolymphe treten verglichen mit normaler Hämolymphe Glutamin, Lysin, Glycin + Serin und Threonin in übermäßiger,  $\alpha$ -Alanin, Prolin, Tyrosin und die Polypeptide Larvin 1 und Larvin 2 in zu geringer Konzentration auf. Alle in *ltr*-Hämolymphe übermäßig vertretenen Eiweißbausteine finden sich auch in *lpm*-Larven in übernormaler Konzentration, dazu aber noch Glutaminsäure, Arginin, Histidin, Prolin und das Polypeptid Drosophilin. Von den in *ltr*-Larven zu schwach vertretenen Eiweißbausteinen treten in *lpm*-Tieren nur  $\alpha$ -Alanin und Larvin 2 in relativ geringer Konzentration auf; außerdem noch Valin. Tyrosin verhält sich in *lpm*-Larven normal, und Prolin ist, wie schon gesagt, bedeutend stärker vertreten.

Die hohe Konzentration der Glutaminsäure in *lpm*-Larven verdient im Zusammenhang mit der im vorhergehenden Abschnitt erwähnten Hypothese einer nervösen Störung besondere Beachtung. Nach WEIL-MALHERBE (1953) wird diese Aminosäure durch die Entgiftungsvorgänge im Nervengewebe von Wirbel-

tieren in großer Menge gebildet und durch Aminierung in Glutamin umgewandelt. Es scheint vorläufig zwar unwahrscheinlich, daß das *lpm*-Nervensystem diese große Menge Glutaminsäure und Glutamin produziert, doch sollten weitere Untersuchungen dieses Problem noch erhellen.

Vergleichen wir die Quantitäten der freien Eiweißbausteine in letalen und normalen Präpuppen, so fällt das normale Verhalten der meisten Substanzen auf. Außer für Glutaminsäure, Serin, Histidin, Lysin, Arginin, Larvin 2, Präpupin und Drosophilin finden wir in diesem Stadium keine Unterschiede zwischen Normal- und Letal-Typen. Das Defizit an Glutaminsäure, Lysin und Polypeptiden sowie der Überschuß an Histidin sind allerdings eindrucklich. Interessant ist, daß Polypeptide in frischen *lpm*-Präpuppen reduziert, in Normaltieren des gleichen Stadiums jedoch vermehrt werden. Die große Menge Drosophilin in *lpm*-Larven zeigt, daß dieses Polypeptid von *lpm*-Tieren gebildet werden kann. Versuche mit Alkoholextrakten haben gezeigt, daß Drosophilin auch in vitro abgebaut werden kann (BENZ 1955). In der gleichen Arbeit ist gezeigt worden, daß in der Normalentwicklung von *Drosophila* dieses Peptid im mittleren 3. Larvenstadium und im frühen Puppenstadium in sehr großer Konzentration auftritt, d. h. in den Stadien des stärksten Wachstums und des stärksten Aufbaus von Organen. Drosophilin könnte also ein Zwischenprodukt der Eiweißsynthese sein (vgl. BRENNER et al. 1955). Daß dieses Polypeptid in jungen Präpuppen nicht vermehrt wird, dürfte ein Verzögerungseffekt sein. Der Überschuß an Drosophilin in *lpm*-Larven und späten *lpm*-Präpuppen (Tabelle 10) würde dann bedeuten, daß dieses Peptid zwar aufgebaut, aber nicht weiter- oder nur unvollständig zu Protein verarbeitet werden kann und darum angehäuft wird. Da diese Anhäufung von Drosophilin in Tieren mit unterentwickelter Muskulatur auftritt, ist es denkbar, daß Drosophilin für den Aufbau der Muskulatur eine bedeutende Rolle spielt.

Etwas sonderbar erscheint auf den ersten Blick die Tatsache, daß CHEN und HADORN (1954) dieses Peptid nur in *Drosophila*-Larven, nicht aber in Larven von *Corethra* und *Ephestia* nachweisen konnten. Von den beiden letzten Spezies haben die Autoren nur verpuppungsreife Larven untersucht, d. h. das Stadium, in dem Drosophilin in geringster Konzentration zu erwarten ist. Es wäre darum noch zu untersuchen, ob das Peptid in andern Entwicklungsstadien von *Corethra* und *Ephestia* vielleicht doch nachgewiesen werden könnte. Neuere Chromatogramme haben jedenfalls gezeigt, daß Drosophilin in Männchen der Schabe *Leucophaea*, die kurz vor der Imaginalhäutung stehen, auftritt.

Präpupin ist an das Gewebe gebunden und wurde von CHEN und HADORN in der *Drosophilahämolymphe* nicht nachgewiesen. Werden alkoholische Extrakte von Larven samt dem zerriebenen Gewebe 24 Std lang stehengelassen, tritt eine Vermehrung von Präpupin ein. Wahrscheinlich benötigt die Substanz längere Zeit zur vollständigen Extraktion. Das Peptid tritt vor allem in Präpuppen in größerer Konzentration auf. Diese erhöhte Konzentration in Vorpuppen könnte auf dem Abbau der Gewebe beruhen. In *lpm*-Tieren ist Präpupin immer schwach vertreten. Es ist denkbar, daß der *lpm*-Organismus dieses sehr komplexe Polypeptid (s. BENZ 1955) nicht in genügender Menge synthetisieren kann.

Die physiologischen Untersuchungen ergänzen die morphologischen Befunde. Es kann festgestellt werden, daß vom *lpm*-Faktor, im Zusammenhang mit einer starken Muskelreduktion, eine Störung des Eiweißstoffwechsels bewirkt wird. Ob diese Stoffwechselstörungen primärer oder sekundärer Natur sind, läßt sich nicht



bestimmt sagen. Eine vollständige Deutung der physiologischen Phäne ist sehr schwierig. Wie schon auf S. 93 festgestellt wurde, sind noch viele Studien über den Eiweißstoffwechsel von *Drosophila* notwendig, bevor die genischen Grundlagen dieser Vorgänge analysiert werden können. Trotzdem zeigen die Untersuchungen, daß gerade das Studium von Letalfaktoren geeignet ist, Gestaltungsvorgänge und biochemische Prozesse in einem Lebewesen aufzuklären.

c) **Allgemeines zur *lpm*-Wirkung.** Der *lpm*-Faktor bewirkt eine Reihe von Phänen, deren Expressivität ziemlich stark variiert. Die Variabilität ist zum größten Teil genetisch (Modifikatoren), zum Teil aber durch Umweltfaktoren (Temperatur, Futter usw.) bedingt. Im Gegensatz zu der stark schwankenden Expressivität des Faktors ist die Penetranz meist 100%ig; doch können Modifikatoren die Wirkung von *lpm* ganz aufheben. Wesentliche Teile des pleiotropen Schädigungsmusters (HADORN 1945) der Letaltypen können durch das Versagen der *lpm*-Muskulatur erklärt werden. Neben der histologisch nachweisbaren Muskeldystrophie kann in *lpm*-Tieren eine starke Störung des Proteinstoffwechsels festgestellt werden. Ob der Letalfaktor direkt die Muskeln angreift oder zunächst allgemeiner wirkt und in den Eiweißstoffwechsel eingreift, kann auf Grund dieser Untersuchungen nicht entschieden werden. Die verschiedenen Phäne erwecken den Eindruck, daß die Muskeln zum Teil nicht aufgebaut, zum Teil verfrüht abgebaut werden.

### Summary

#### I. The factor *letal-bluter* (*lbl*)

1. The locus of *lbl* is  $2-43.8 \pm$ .
2. The effect of *lbl* is that flies which are ready to hatch lose haemolymph and die after unsuccessful hatching movements. Death is strictly phase-specific.
3. *lbl* animals have a thicker layer of protein in the puparia than normal animals. The chitin layer develops normally.
4. Hydrolysates from normal and lethal puparia show that the chemical composition of the two types of puparia is slightly different.
5. If the lid of the puparium in *lbl* pupae is removed, the animals can hatch and are normally viable and fertile.
6. If one seals the lid of normal puparia with wax, or if normal pupae are put into *lbl* puparia, the *bluter* character will be phaenocopied.
7. Some of the *lbl* animals are able to open a normal puparium lid but are not so vigorous as normal animals. The imaginal hypodermis of the *lbl* flies is somewhat weak.
8. Differences in the content of free amino acids and polypeptides have been distinguished and measured between normal and lethal animals. The greatest differences appear in the third larval instar, in the prepupa and in the early pupa. The *lbl* factor affects the protein metabolism.
9. The tyrosinase activity in *lbl* pupae is normal. The strong blackening of the lethals is due to a higher concentration of tyrosine in *lbl* pupae just before hatching.
10. The expressivity and penetrance of the factor is variable. The penetrance depends on the temperature, on the state of nutrition, on the speed of development and on genetic modifiers.
11. The results have been discussed.

## II. The factor *lethal-polymorph* (*lpm*)

1. The locus of *lpm* is approximately  $2-30.3 \pm$ .
2. *lpm* animals die as young or old larvae, as prepupae or as pupae. No strictly phase-specific lethality can be detected. *lpm* larvae do not contract before pupation. The pupae are therefore long and thin.
3. The rate of development is somewhat reduced in *lpm* animals.
4. The morphological characters of lethal larvae, prepupae and pupae are described. The mutant shows a very variable pleiotropic pattern of damage. The chief characteristic of the *lpm* animals is a strong muscular dystrophy. The performance of the muscles is correspondingly weakened.
5. The protein metabolism of the mutant is strongly disturbed. The late third instar larvae, as well as young and old prepupae were investigated. In the larval stage, free amino acids and one polypeptide appeared in abnormally high concentrations. The differences between normal and lethal prepupae are, however, only slight.
6. If normal larvae are fed on euquinine, the external characters of the *lpm* pupae are phaenocopied.
7. The penetrance of the factor is normally 100%. It can be altered by genetic and external factors. The same is true for the expressivity.
8. The results are comprehensively discussed.

## Literatur

- BENZ, G.: *Drosophila* information service. **27**, 55 (1953). — Der Faktor *lethal-bluter* (*lbl*) bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **29**, 346 (1954). — Quantitative Veränderungen der Aminosäuren und Polypeptide während der Entwicklung von *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **30**, 498 (1955). — BERTSCHMANN, M.: Versuche zur phänokopierenden Wirkung von Chemikalien (Nitrogen-Mustard u. a.) bei *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **87**, 229 (1955). — BODE, F. H., H. J. HÜBNER, H. BRÜCKNER u. K. HOERES: Eine einfache quantitative Bestimmung von Aminosäuren im Papierchromatogramm. Naturwiss. **39**, 525 (1952). — BODENSTEIN, D.: The postembryonic development of *Drosophila*. Biology of *Drosophila*, edit. by M. DEMEREC, p. 275. 1950. — CHEN, P. S.: A comparative study of the oxygen consumption in the three lethal mutants „*ltr*“, „*lgl*“ and „*lme*“ of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **84**, 38 (1951). — Elektrophoretische Bestimmung des Proteingehaltes im Blut normaler und letaler (*ltr*) Larven von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **63**, 216 (1956). — CHEN, P. S., u. E. HADORN: Vergleichende Untersuchungen über die freien Aminosäuren in der larvalen Hämolymphe von *Drosophila*, *Ephesia* und *Corethra*. Rev. suisse Zool. **61**, 437 (1954). — Zur Stoffwechselphysiologie der Mutante *lethal-meander* (*lme*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **62**, 338 (1955). — EDLBACHER, S., u. F. LEUTHARDT: Lehrbuch der physiologischen Chemie. Berlin 1952. — FABER, J., F. H. SOBELS, J. FLORSCHÜTZ-DE WAARD u. F. J. OPPENOORTH: An analysis of the mutant *lethal non-evaginated* of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre **86**, 293 (1954). — GLICK, D.: Technique of histo- and cyto-chemistry. New York u. London: Interscience Publ. 1949. — GLOOR, H.: Phänokopie einer Letalmutante (*crc*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. **51**, 394 (1944). — Zur Entwicklungsphysiologie und Genetik des Letalfaktors *crc* bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg **20**, 209 (1945). — GOLDSCHMIDT, R.: Gen und Außeneigenschaften. I. u. II. Z. Vererbungslehre **69**, 38 (1935). — HADORN, E.: Zur Pleiotropie der Genwirkung. Arch. Klaus-Stiftg Erg.-Bd. z. **20**, 82 (1945). — Gene action in growth and differentiation of lethal mutants of *Drosophila*. Symposia Soc. Exper. Biol. **1948a**, No 2, 177. — Genetische und entwicklungsphysiologische Probleme der Insektenontogenese. Folia biotheoretica **3**, 109 (1948b). — Begriffe und Termini zur Systematik der Letalfaktoren. Arch. Klaus-Stiftg **24**, 105 (1949). — Developmental action of lethal factors in *Drosophila*. Adv. Genet. **4**, 53 (1951a). — Beein-

flussung der *Drosophila*-Entwicklung durch Mutation und Experiment. Verh. Dtsch. Zool. Ges. Wilhelmshaven, 29, 1951 b. — Approaches to the study of developmental and biochemical effects of mutations. IX. Internat. Congr. Genetics, Bellagio 1955(a). — Letalfaktoren. Stuttgart 1955(b). — HADORN, E., u. P. S. CHEN: Untersuchungen zur Phasenspezifität der Wirkung von Letalfaktoren bei *Drosophila melanogaster*. Arch. Klaus-Stiftg 27, 147 (1952). — HADORN, E., u. H. GLOOR: *Cryptocephal*, ein spät wirkender Letalfaktor bei *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. 50, 256 (1943). — HADORN, E., u. E. STUMM-ZOLLINGER: Untersuchungen zur biochemischen Auswirkung der Mutation „*lethal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. 60, 506 (1953). — HAECKER, V.: Entwicklungsgeschichtliche Eigenschaftsanalyse (Phänogenetik). Jena 1918. — HINTON, T., D. T. NOYES and J. ELLIS: Amino acids and growth factors in a chemically defined medium for *Drosophila*. Physiologic. Zool. 24, 335 (1951). — HOROWITZ, N. H., and M. FLING: The autocatalytic production of tyrosinase in extracts of *Drosophila melanogaster*. In: Amino Acid Metabolism, edit. by D. McELROY and B. GLASS, p. 207. Baltimore 1955. — HOTCHKISS, R. D.: A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations. Arch. of Biochem. 16, 131 (1948). — KÄFER, E.: Vitalitätsmutationen, ausgelöst durch Röntgenstrahlen bei *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 84, 508 (1952). — KIDDER, G. W., and V. C. DEWEY: Studies on the biochemistry of *Tetrahymena*. I. Amino acid requirements. Arch. of Biochem. 6, 425 (1945). — NÜESCH, H.: Über den Einfluß der Nerven auf die Muskelentwicklung bei *Telea polyphemus* (Lepid.). Rev. suisse Zool. 59, 294 (1952). — Segmentierung und Muskelnervation bei *Telea polyphemus* (Lep.). Rev. suisse Zool. 61, 420 (1954). — OHNISHI, E.: Tyrosinase activity in *Drosophila*. Jap. J. Zool. 11, 69 (1953). — ROBERTSON, C. W.: The metamorphosis of *Drosophila melanogaster*, including an accurately timed account of the principal morphological changes. J. of Morph. 59, 351 (1936). — RUDKIN, G. T., and J. SCHULTZ: Evolution of nutritional requirements in animals: amino-acids essential for *Drosophila melanogaster*. Anat. Rec. 99, 643 (1947). — SCHMID, W.: Analyse der letalen Wirkung des Faktors *lme* (*lethal-meander*) von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 83, 220 (1949). — SOBELS, F. H., and L. E. NIJENHUIS: An investigation into metamorphosis of the mutant *lethal-translucida* of *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 85, 579 (1953). — STUMM-ZOLLINGER, E.: Vergleichende Analyse der Aminosäuren und Peptide in der Haemolymph des Wildtyps und der Mutante „*lethal-translucida*“ (*ltr*) von *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 86, 126 (1954). — WEIL-MALHERBE, H.: Die Funktion der Glutaminsäure im Nervengewebe. Naturwiss. 40, 545 (1953).

Dr. GEORG BENZ, Zoologisches Institut, Bern/Schweiz, Sahlistr. 8



Aus dem Max-Planck-Institut für Biologie, Abt. MELCHERS, Tübingen, und dem Institut für Landwirtschaftliche Technologie und Zuckerindustrie an der Technischen Hochschule, Braunschweig

## ZUR FRAGE DES EINFLUSSES VON RÖNTGEN- UND UV-STRAHLEN AUF DIE MUTATIONSRATE DES TABAKMOSEKIVIRUS NACH BESTRAHLUNG REINER PRÄPARATE\*

Von

KARL-WOLFGANG MUNDREY

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 20. Dezember 1956)

Die Untersuchungen von JENSEN (1933, 1936, 1937), MCKINNEY (1935, 1937), HOLMES (1934, 1936), NORVAL (1938) u. a. haben bewiesen, daß bei phytopathogenen Virusarten und vor allem beim Tabakmosaikvirus (TMV) die vielen verschiedenen Stämme ihre Existenz einem Vorgang verdanken, der mit Bezug auf die Vermehrungsrate selten und anscheinend sprunghaft ist, und für den daher die Bezeichnung „Mutation“ gerechtfertigt erscheint. Die Chemiker, die die Erreger pflanzlicher Viruskrankheiten isoliert haben, halten sie für Nukleoproteide wohldefinierter Zusammensetzung. Die Vermutung, daß die Mutanten sich in der chemischen Konstitution der Nukleoproteide unterscheiden, scheint sich zu bestätigen: manifestieren sie sich doch nicht nur in veränderten Krankheitssymptomen, sondern auch in veränderten serologischen, physikochemischen Eigenschaften und auch in veränderter chemischer Zusammensetzung (PFANKUCH, KAUSCHE und STUBBE 1940; STANLEY 1941; SCHRAMM und REBENBURG 1942; FRIEDRICH-FREKSA, MELCHERS und SCHRAMM 1946; KNIGHT 1947; HARRIS und KNIGHT 1952; SCHRAMM und BRAUNITZER 1953; SCHRAMM 1954; AACH 1957; KRAMER 1957). Bei dieser Sachlage, die nicht nur den Virusspezialisten, sondern auch den Genetiker interessieren muß, ist es auffällig, wie wenig Gesichertes bis jetzt über den Einfluß von Außenfaktoren auf die Virusmutation bekannt ist. Entsprechende Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur, verschiedener Strahlen und Chemikalien auf Gen- und Chromosomenmutationen sind dagegen in großer Zahl vorhanden.

Viele allgemeine Darstellungen des Problems (wie z. B. TROLL 1951; POLLARD 1954; SINNOTT, DUNN und DOBZHANSKY 1950) geben an, die Virusmutationen verhielten sich in dieser Hinsicht wie die Mutationen bei den gut untersuchten Objekten der zoologischen und botanischen Genetik. Diese Behauptungen verzichten aber entweder ganz auf Belege oder stützen sich auf experimentell unzureichende Veröffentlichungen.

Nach der Hypothese von TIMOFÉEFF, ZIMMER und DELBRÜCK (1935) sollten Gene Atomverbände sein, und Mutationen sollten spontan durch zufällige Konzentration von Energie an besonderen Stellen und dadurch bedingte Strukturänderungen des Verbandes entstehen. Erhöhung der Temperatur und einestrahlte Energie sollten lediglich die Häufigkeit dieses Vorganges positiv beeinflussen. Es muß bei dieser rein physikalischen Vorstellung weitgehend gleichgültig

\* Ein Teil der hier veröffentlichten Ergebnisse ist Bestandteil einer Dissertation der math.-naturw. Fakultät der Univ. Tübingen 1954.

sein, in welchem Zustand sich das Gen befindet: in ruhenden oder physiologisch aktiven Zellen oder gar in solchen, in denen die Reduplikation der Gene stattfindet. Es war naheliegend, als besonders extremes Beispiel völliger Inaktivität reine Viruspräparate zu wählen.

Die einzige positive Angabe in der Literatur über eine Erhöhung der Häufigkeit eines bestimmten Mutationsschrittes in Abhängigkeit von der Röntgenstrahlendosis, und zwar für Hin- und Rückmutation beim TMV, ist in einem Vortrage von GOWEN (1941) enthalten (Tabelle 1). Die ausführliche Veröffentlichung der experimentellen Details zu diesen Angaben fehlt bis heute.

Im folgenden werden Versuche zur Erhöhung der Mutationsrate an reinen Virusbiosphären durch Röntgen- und UV-Bestrahlung mitgeteilt.

### I. Versuche an reinen Virusbiosphären zur Erhöhung der Mutationsrate durch Bestrahlung<sup>1</sup>.

Soweit wie irgend möglich wurden die Versuche der von GOWEN 1941 angewandten Technik angepaßt. Auf „Java“-Tabak (MELCHERS, SCHRAMM, TRURNIT und FRIEDRICH-FREKSA 1940) und *Nicotiana glauca* primär nekrotisierende Stämme wurden in konzentrierten, meist gepufferten Lösungen bestrahlt<sup>2</sup>. Die Infektivität (= Zahl der primären Infektionsherde je Blatt)



Abb. 1a u. b. a Pflanze des „Java“-Tabaks nach Inokulation mit einem primär nekrotisierenden Stamm des TMV, Normalfall: primäre Nekrosen auf dem mit Virusbiosphäre eingeriebenen Blatt, übrige Blätter, vor allem die an der Sproßspitze, gesund; b Pflanze des „Java“-Tabaks nach Inokulation mit einem primär nekrotisierenden Stamm des TMV und „Rückmutation“ zu einem systemischen Stamm: primäre Symptome in Form von Nekrosen auf dem inokulierten Blatt, Sekundärsymptome in Form einer Mosaikfleckung an den Blättern der Sproßspitze

<sup>1</sup> Über diese Versuche wurde in anderem Zusammenhang bereits vorläufig berichtet (MELCHERS und MUNDURY 1953).

<sup>2</sup> Bei Infektion von Pflanzen mit primär nekrotisierenden Stämmen bleibt die Sproßspitze normalerweise gesund. Im Fall einer Mutation zu nicht primär nekrotisierenden, systemischen Stämmen wandert das Virus aus den Nekrosen heraus und durchsetzt die ganze Pflanze, was zur Entstehung von Sekundärsymptomen führt. Vgl. dazu Abb. 1.

der nicht bestrahlten Kontrollen wurde durch Verdünnen mit Pufferlösung etwa der der bestrahlten Präparate angeglichen. Diese wichtige Maßnahme wurde von GOWEN außer acht gelassen. Etwa gleiche Anzahlen von 5—6 Wochen alten „Java“-Pflanzen wurden mit Versuchs- und Kontrolllösung durch Einreiben der drei (ausnahmsweise vier) bestentwickelten Blätter mit Mulltupfern infiziert. Die Versuchs- und Kontrollpflanzen fanden Aufstellung im Gewächshaus stets so, daß ein systematischer Fehler durch Unterschiede in der Beleuchtung und anderer Außenfaktoren vermieden wurde. 5 bis 10 Tage nach der Infektion wurden die primären Symptome (im folgenden stets mit P.S. bezeichnet) gezählt und in laufenden Beobachtungen das Auftreten von Sekundärsymptomen (im folgenden stets mit S.S. bezeichnet) protokolliert. Der Quotient  $\frac{\text{P.S.}}{\text{P.S.}}$  ist das Maß für die „Mutationsrate“ (entspricht der „Rückmutationsrate“ *aucuba* → *normal* im Material von GOWEN) (s. Abb. 1, dort etwas ausführlichere Erläuterung der Symptome).

Versuche mit Röntgenstrahlen

5 cm<sup>3</sup> Viruslösung wurden in geschlossenen Cellophankapseln in 0,6 cm hoher Schicht mit 10<sup>6</sup> r einer harten Röntgenstrahlung (169 kV, 8 mA, Filter 1 mm Al) bestrahlt.

1. Bestrahlungsversuch.

Viruspräparat: *dahlemense* 42 a II uz, 47 mg/cm<sup>3</sup>, dargestellt von G. SCHRAMM; Lösung von 0,47 mg/cm<sup>3</sup> m/15 Phosphatpuffer p<sub>H</sub> 7,5 bestrahlt am 25. 8. 51, anschließend mit Puffer auf 1/10 verdünnt und bei +20 bis zur Infektion aufbewahrt.

Kontrolle: 0,047 γ/cm<sup>3</sup> gleichen Puffers, Aufbewahrung s. oben.

Tabelle 1 (nach GOWEN 1941).  
Spontanrate für Hin- und Rückmutation zwischen „normal TMV“ und „green aucuba“

Elternstamm	Zahl geprüfter Nekrosen	Neuer Typ	Mutationsrate
ordinary mosaic	649307	975	$15,0 \times 10^{-4}$
green aucuba	198965	295	$14,8 \times 10^{-4}$

Rate für die Mutation von „normal TMV“ zu „green aucuba“ in ihrer Abhängigkeit von der Röntgendosis bei in vitro-Bestrahlung

roentgens of exposure	ordinary mosaic lesions on beans	aucuba lesions on <i>Nicotiana sylvestris</i>	ratio $\times 10^{-4}$
control	225750	179	7,9
149000	161737	527	32,6
248000	29268	157	53,6
490000	4052	28	69,1

Rate für die Rückmutation von „green aucuba“ zu „normal TMV“ in ihrer Abhängigkeit von der Röntgendosis bei in vitro-Bestrahlung

roentgens of exposure	aucuba lesions	ordinary mosaic lesions	ratio $\times 10^{-4}$
control	198965	295	14,8
62500	111493	233	20,9
132000	103704	446	27,2*
438000	43755	108	24,2
748000	12041	55	45,7
1355000	3720	33	88,7

\* Wohl Druckfehler in der Gowenschen Arbeit:  
statt 27,2 muß es heißen  $\frac{446}{103704} = 43,0 \times 10^{-4}$ !

Tabelle 2. Ergebnisse des 1. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen
Zahl der Pflanzen . . .	140	140
Summe aller P.S. . . .	671	29
P.S./Blatt . . . . .	1,6	0,07
S.S./Gruppe . . . . .	4	2
„Mutationsrate“ . . . .	$6 \times 10^{-3}$	$6,9 \times 10^{-2}$



Infektion am 27. 8. 51, je 140 „Java“-Pflanzen an je 3 Blättern; P.S. am 31. 8. 51 gezählt; S.S. 5.—10. 9.<sup>1</sup>, Versuchsabbruch am 18. 9. 51. Ergebnisse Tabelle 2.

#### 2. Bestrahlungsversuch.

*Viruspräparat:* *dahlemense* 42 a II uz, s. Versuch 1; Konzentration 47 mg Eiweiß/cm<sup>3</sup> Puffer<sup>2</sup>, bestrahlt am 5./6. 10. 51, nach Bestrahlung mit Puffer auf  $\frac{1}{10}$  verdünnt.

*Kontrolle:* 0,47  $\gamma$ /cm<sup>3</sup> Puffer.

Tabelle 3. Ergebnisse des 2. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen
Zahl der Pflanzen . . . . .	140	140
Summe aller P.S. . . . .	26405	40361
P.S./Blatt . . . . .	56	87
S.S./Gruppe . . . . .	8	11
„Mutationsrate“ . . . . .	$3,03 \times 10^{-4}$	$2,73 \times 10^{-4}$

Infektion am 6. 10. 51, je 140 „Java“-Pflanzen an 3, teils 4 Blättern, P.S. gezählt am 12.—15. 10. 51, S.S. 18. 10. bis 3. 11. 51, Versuchsabbruch am 17. 11. 51. Ergebnisse Tabelle 3.

#### Versuche mit UV-Strahlen

Bestrahlt wurde in offenen Glasschälchen, 5 cm<sup>3</sup> Lösung in 0,2 cm Schichtdicke, unter ständigem Schütteln, mit einem Hg-Niederdruck-Sterilisationsbrenner der Fa. Heraeus-Hanau, Typ NK 25/85, der 90% seiner Intensität bei 2537 Å emittiert, mit Reflektor; Abstand Quarzrohr-Außenwand zu Flüssigkeitsoberfläche = 5,0 cm. In Vorversuchen wurde die Dosis ermittelt, die etwa die gleiche Inaktivierung verursacht wie 10<sup>6</sup> r der oben genannten Röntgenstrahlung.

Tabelle 4. Ergebnisse des 3. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen	
Bestrahlung . . . . .	—	15 min	25 min
Zahl der Pflanzen . . . . .	100	100	100
davon ausgewertet . . . . .	50	55	50
P.S. auf diesen Pflanzen . . . . .	31208	148	6
P.S./100 Pflanzen . . . . .	62416	269	12
S.S./100 Pflanzen . . . . .	14	5	0
„Mutationsrate“ . . . . .	$2,24 \times 10^{-4}$	$1,86 \times 10^{-2}$	—

3. Bestrahlungsversuch.

*Viruspräparat:* *dahlemense* 42 a II uz (s. 1. Röntgenversuch); 4,7 mg/cm<sup>3</sup> Puffer; 15 bzw. 25 min am 14. 1. 52 bestrahlt, danach auf  $\frac{1}{10}$  mit Puffer verdünnt.

*Kontrolle:* 2,35  $\gamma$ /cm<sup>3</sup> Puffer.

Infektion am gleichen Tage, je 100 „Java“-Pflanzen an je 3 Blättern, P.S. gezählt am 26.—30. 1. 52 (wegen zu großer Zahl nur an etwa der Hälfte der Pflanzen), erste S.S. am 2. 2. 52, Versuchsabbruch am 13. 2. 52. Ergebnisse Tabelle 4.

#### 4. Bestrahlungsversuch.

*Viruspräparat:* *dahlemense* 52 I AS (neues Präparat, nach 6 Einzelherdübertragungen bei Grenzverdünnung auf „Java“-Pflanzen und Vermehrung des letzten Einzelherdes auf

Tabelle 5. Ergebnisse des 4. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen
Zahl der Pflanzen . . . . .	100	90
Summe aller P.S. . . . .	465	1982
P.S./Blatt . . . . .	1,55	7,35
S.S./Gruppe . . . . .	0	0
„Mutationsrate“ . . . . .	—	—

149 „Samsun“-Pflanzen rein dargestellt, Ausbeute 1,08 g Virus je kg frisches Blattmaterial, Konzentration der Stammlösung 24 mg Eiweiß/cm<sup>3</sup>, Konzentration des bestrahlten Präparates 2,4 mg/cm<sup>3</sup> Puffer, 11 min bestrahlt am 7. 4. 52.

*Kontrolle:* 0,024  $\gamma$ /cm<sup>3</sup> Puffer.

Infektion der „Java“-Pflanzen am 7. 4. 52, 100 Kontrollen und 90 Testpflanzen an je 3 Blättern; P.S. gezählt am 17. 4. 52, Versuchsabbruch am 6. 5. 52. Ergebnisse Tabelle 5.

<sup>1</sup> Erster Termin: erstes S.S. aufgefunden, weitere S.S. bis zum 2. Termin, danach keine Änderung mehr.

<sup>2</sup> Wenn nichts anderes erwähnt, wurde m/15 Phosphatpuffer p<sub>H</sub> = 7,5 verwendet.

## 5. Bestrahlungsversuch.

*Viruspräparat: dahlemense* 52 I AS, Stammlösung, nur durch Dialyse gegen Aqua dest. etwas verdünnt; bestrahlt am 12. 6. 52, 11 min.

*Kontrolle:* Verdünnung der dialysierten Lösung mit Puffer auf  $4 \times 10^{-6}$ .

Infektion der „Java“-Pflanzen (77 Kontrollen, 99 Testpflanzen) an je 3 Blättern am 12. 6. 52; P.S. gezählt am 17./18. 6. 52, Versuchsabbruch 30. 6. 52; Ergebnisse Tabelle 6.

Tabelle 6. Ergebnisse des 5. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen
Zahl der Pflanzen . . .	77	99
Summe aller P.S. . . .	54017	15417
P.S./Blatt . . . . .	234	52
S.S./Gruppe . . . . .	0	0
„Mutationsrate“ . . . . .	—	—

## 6. Bestrahlungsversuch.

*Viruspräparat: dahlemense* 52 I AS, Stammlösung, dialysiert gegen m/15 Phosphatpuffer  $p_H = 6,8$ , sonst unverdünnt, 16 min bestrahlt am 12. 9. 52.

*Kontrolle:* dialysierte Lösung mit gleichem Puffer auf  $5 \times 10^{-3}$  verdünnt.

Infektion von je 84 „Java“-Pflanzen an je 3 Blättern am 12. 9. 52, P.S. gezählt am 22. 9. 52; Versuchsabbruch am 21. 10. 52. Ergebnisse Tabelle 7.

Tabelle 7. Ergebnisse des 6. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen
Zahl der Pflanzen . . .	84	84
Summe aller P.S. . . .	30912	72273
P.S./Blatt . . . . .	123	287
S.S./Gruppe . . . . .	0	0
„Mutationsrate“ . . . . .	—	—

## 7. Bestrahlungsversuch.

*Viruspräparat: flavum necans*<sup>1</sup> 53 XII uz (ein auf „Java“-Tabak primär nekrotisch wirkender Gelbstamm, der aus *flavum* stammt, isoliert, vermehrt und rein dargestellt in einer Ausbeute von 0,5 g Virus je Kilogramm frisches Blattmaterial), Konzentration der Stammlösung: 8,74 mg/cm<sup>3</sup> Puffer, in dieser Konzentration am 14. 12. 53 16 min bestrahlt.

*Kontrolle:*  $8,74 \times 10^{-3}$  g/cm<sup>3</sup> Puffer.

Tabelle 8. Ergebnisse des 7. Bestrahlungsversuchs

	Kontrollen	Testpflanzen
Zahl der Pflanzen . . .	117	117
Summe aller P.S. . . .	28978	39417
P.S./Blatt . . . . .	62	84
S.S./Gruppe . . . . .	23	18
„Mutationsrate“ . . . . .	$7,93 \times 10^{-4}$	$4,57 \times 10^{-4}$

Infektion von je 117 „Java“-Pflanzen an je 4 Blättern am 14. 12. 53, P.S. gezählt am 20./21. 12. 53; Versuchsabbruch am 8. 1. 54. Ergebnisse Tabelle 8.

Die bisherigen Versuche zeigen in den Fällen, in denen keine „spontane Mutationsrate“ vorhanden ist, auch keine „Mutationsrate“ nach Bestrahlung. Ist eine „Spontanrate“ beobachtet oder m. a. W. ist das primär nekrotisierende mit systemisch wirkendem Virus verunreinigt, hat die Bestrahlung ganz unübersichtliche Effekte. Ordnet man aber — wie das in der folgenden Tabelle (Tabelle 9) geschehen ist — die Versuche mit den Viruspräparaten, bei denen überhaupt eine „Mutationsrate“ beobachtet wurde (42 a II uz und 53 XII AS), nach der auf den infizierten Blättern herrschenden Nekrosendichte, so erhält man eine eindeutig negative Korrelation; d. h. die scheinbare Mutationsrate steigt mit der Verminderung der Infektivität der Präparate an, wobei gleichgültig ist, ob die Reduktion der Infektivität durch Bestrahlung der Präparate mit Röntgen- oder Ultraviolettstrahlen oder etwa durch Verdünnen mit Phosphatpuffer erreicht wurde.

<sup>1</sup> Beschreibung s. MUNDY 1957, im Druck.

Tabelle 9. Zusammenfassung der Bestrahlungsversuche 1—3 und 7

Präparat Nr.	dahlemense 42 a II uz						flavum necans 53 XII uz	
	1	2	3	4	5	6	7	8
Spalte Nr.	3	2		1	3	1	7	7
Versuchs-Nr.		2	2					
Verminderung der Infektivität durch	Verdünnen	Röntgenbestrahlung	Verdünnen	Verdünnen	UV-Be-strahlung	Röntgenbestrahlung	UV-Be-strahlung	Verdünnen
Infektivität (= nekrotische Infektionsherde je Blatt)	208	87	56	1,6	0,9	0,07	84	62
„Mutationsrate“	$2,24 \times 10^{-4}$	$2,73 \times 10^{-4}$	$3,03 \times 10^{-4}$	$6,0 \times 10^{-3}$	$1,86 \times 10^{-2}$	$6,9 \times 10^{-2}$	$4,57 \times 10^{-4}$	$7,93 \times 10^{-4}$
$p^1$	$> 0,25$	$> 0,25$	$> 0,25$	0,00006	0,0145	0,0028	0,065	

<sup>1</sup> Die statistische Beurteilung der Differenzen zweier Häufigkeiten erfolgte nach KOLLER 1943, Tafel 5 und 6. Diese Tafeln geben die für eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von 0,27% (also  $p = 0,0027$ ) höchstzulässigen Zufallsdifferenzen  $P_0 - P_u$  in Prozent an. Die Umrechnung der tatsächlich gefundenen Differenz  $P_1 - P_2$  mittels der als Zufallsergebnis gerade noch zulässigen, aus den Tabellen entnommenen, nach dem Verhältnis  $\frac{P_1 - P_2}{P_0 - P_u} = k$  ergibt einen Korrekturfaktor. Aus diesem kann über eine graphische Darstellung der in KOLLER, Seite 8 angegebenen Korrekturfaktoren die für die tatsächlich gefundene Differenz gültige Überschreitungswahrscheinlichkeit  $p$  ermittelt werden.

Dieser Befund legt den Verdacht nahe, daß für die relative Häufigkeit des Auftretens von Sekundärsymptomen Konkurrenzphänomene zwischen den primär nekrotisierenden und dem systemischen Stamm im primär infizierten Blatt verantwortlich sind.

## II. Versuche mit Mischungen zweier Virusstämme

Folgende Experimente mit willkürlich hergestellten „Verunreinigungen“ eines Stammes mit einem anderen und die Analyse der relativen Häufigkeit, mit der sich diese Verunreinigungen in Abhängigkeit von der absoluten Konzentration der Mischung manifestieren, stützten die geäußerte Vermutung.

### 1. Mischinfektionsversuch.

*Viruspräparate:* dahlemense 52 IAS (vgl. 4. Bestrahlungsversuch) und vulgare, s. Abb. 1b (auf „Java“-Tabak systemischer Grünstamm, Beschreibung bei MELCHERS 1942).

*Testpflanzen:* *Nicotiana silvestris*.

Inokulation der Pflanzen an je 4 Blättern am 5. 4. 54, Versuchsende 14. 5. 54. Ergebnisse Tabelle 10.

Die Ergebnisse dieses ersten Versuches liegen zwar in der vermuteten Richtung, die Erhöhung der „Mutationsrate“ ist aber statistisch nicht gesichert ( $p = 0,025$ )<sup>1</sup>.

### 2. Mischinfektionsversuch.

*Viruspräparate:* flavum necans 53 IAS (vgl. 7. Bestrahlungsversuch); vulgare.

*Testpflanzen:* „Java“-Tabak.

Inokulation am 19. 7. 55, Versuchsende 30. 8. 55; Ergebnisse Tabelle 11.

Der Anstieg der „Mutationsrate“ bei  $1 \rightarrow 1/10$  der Ausgangs-

<sup>1</sup> Zur Berechnung von  $p$  s. Fußnote zu Tabelle 9.



Tabelle 10. *Ergebnisse des 1. Mischinfektionsversuchs*

Konzentration in $\gamma/\text{cm}^3$		Zahl der Pflanzen	Summe der Blätter	Summe aller P.S.	Pflanzen mit S.S.	P.S. je Blatt	„Mutationsrate“
<i>vulgare</i>	<i>dahlemense</i>						
0,03	2,4	20	80	6658	7	83	$1,05 \times 10^{-3}$ } $p = 0,025$ $2,34 \times 10^{-3}$ } —
0,003	0,24	20	80	855	2	10,7	
0,0003	0,024	20	80	59	0	0,74	

Tabelle 11. *Ergebnisse des 2. Mischinfektionsversuchs*

Konzentration in $\gamma/\text{cm}^3$		Zahl der Pflanzen	Summe der Blätter	Summe aller P.S.	Pflanzen mit S.S.	P.S. je Blatt	„Mutationsrate“
<i>vulgare</i>	<i>flavum necans</i>						
0,03	1,9	20	60	290	20	4,8	$6,9 \times 10^{-2}$ } $p = 0,0001$ $3,06 \times 10^{-1}$ }
0,003	0,19	20	60	49	15	0,8	
0,0003	0,019	20	60	9	7	0,15	$7,8 \times 10^{-1}$ } $p = 0,0101$

mischung von  $6,9 \times 10^{-2}$  auf  $3,06 \times 10^{-1}$  ist gesichert. Bei Weiterverdünnung von  $1/10 \rightarrow 1/100$  steigt die „Mutationsrate“ weiter an, dieser Anstieg ist jedoch nur schwach gesichert ( $p = 0,0101$ ).

### 3. Mischinfektionsversuch.

Viruspräparate: wie im 2. Mischinfektionsversuch.

Testpflanzen: „Java“-Tabak.

Inokulation am 27. 7. 55, Versuchsende 30. 8. 55, Ergebnisse Tabelle 12.

Tabelle 12. *Ergebnisse des 3. Mischinfektionsversuchs*

Konzentration in $\gamma/\text{cm}^3$		Zahl der Pflanzen	Summe der Blätter	Summe aller P.S.	Pflanzen mit S.S.	P.S. je Blatt	„Mutationsrate“
<i>vulgare</i>	<i>flavum necans</i>						
0,39	65	20	80	4623	16	57,8	$3,45 \times 10^{-3}$ } $p = 0,0017$ $1,54 \times 10^{-2}$ }
0,039	6,5	18	72	648	10	9,0	
0,0039	0,65	20	80	99	6	1,25	$6,1 \times 10^{-2}$ } $p = 0,003$

Auch bei diesem Versuch ist der Anstieg der „Mutationsrate“ bei  $1 \rightarrow 1/10$  von  $3,45 \times 10^{-3}$  auf  $1,54 \times 10^{-2}$  gesichert. Auch der weitere Anstieg bei  $1/10 \rightarrow 1/100$  von  $1,54 \times 10^{-2}$  auf  $6,1 \times 10^{-2}$  kann als gesichert betrachtet werden.

Keiner der ausgeführten Versuche dieser Art weicht in der Richtung vom ersten Ergebnis ab: mit Verminderung der absoluten Konzentration einer Mischung von großem Anteil primär nekrotisierendem Virus mit kleinem Anteil an systemischem Virus setzt sich das systemische Virus besser durch.

Für eine Erklärung der von GOWEN beobachteten Erhöhung der „Mutationsrate“ in Abhängigkeit von der Strahlungsdosis genügt dieser Befund jedoch noch nicht, weil von GOWEN 1. eine Erhöhung für Hin- und Rückmutation und 2. nicht nur eine Erhöhung der Mutationsrate, sondern auch eine Erhöhung der absoluten Mutantenzahlen beschrieben wurde (s. kursiv gedruckte Werte Tabelle 1).

In zwei weiteren Versuchen wurde nun auch geprüft, wie sich die Anzahlen primärer Nekrosen bei einem Überschuß an einem systemisch wirkenden, nicht

nekrotisierenden Stamm mit der absoluten Konzentration der Mischung verändert. Als Maß für die Wahrscheinlichkeit eines in Mischung mit einem systemischen Stamm inokulierten, primär nekrotisch wirksamen Partikels sich zu manifestieren, wird die

Manifestations-Wahrscheinlichkeit =

$$P_M = \frac{\text{Nekrosendichte bei Mischinfektion}}{\text{Nekrosendichte der Kontrolle gleicher Konzentration}}$$

verwendet. Sie muß um so kleiner als 1 werden, je mehr der primär nekrotisierende Stamm von dem systemischen unterdrückt wird.

#### 4. Mischinfektionsversuch.

Viruspräparate: wie im 2. Mischinfektionsversuch.

Testpflanzen: „Java“-Tabak.

Inokulation am 26. 9. 55, Versuchsende 11. 10. 55, Ergebnisse Tabelle 13.

Tabelle 13. Ergebnisse des 4. Mischinfektionsversuchs

Konzentration in $\gamma/\text{cm}^3$		Zahl der Pflanzen	Summe der Blätter	Summe aller P.S.	Pflanzen mit W.S.	P.S. je Blatt	„Mutationsrate“	Manifestations- wahrscheinlichkeit $P_M$ für <i>flavum necans</i>
<i>vulgare</i>	<i>flavum<sup>1</sup> necans</i>							
61,4	139	8	24	2913	7	122	$2,4 \times 10^{-3}$ } $p > 0,25$	$3,32 \times 10^{-1}$ } $p \ll 0,0001$
6,14	13,9	8	24	2088	7	87	$3,35 \times 10^{-3}$ } $p = 0,14$	$4,58 \times 10^{-1}$ } $p > 0,25$
0,614	1,39	8	24	999	6	41,6	$6,0 \times 10^{-3}$ } $p = 0,0157$	$4,62 \times 10^{-1}$ } $p \ll 0,0001$
0,0614	0,139	8	24	342	6	14,3	$1,75 \times 10^{-2}$ } $p = 0,0562$	$9,66 \times 10^{-1}$ } $p \ll 0,0001$
—	139	8	24	8824	5	368	$5,7 \times 10^{-4}$ } $p = 0,11$	—
—	13,9	8	24	4664	5	194	$1,07 \times 10^{-3}$ } $p > 0,25$	—
—	1,39	8	24	2151	3	90	$1,4 \times 10^{-3}$ } $p = 0,0562$	—
—	0,139	8	24	354	1	14,7	$2,7 \times 10^{-3}$ } $p = 0,0562$	—

<sup>1</sup> Bezogen auf  $\gamma N$  ist das verwendete *vulgare*-Präparat gegenüber dem von *flavum necans* 10—100mal infektiöser (s. Fußnote 2, S. 125).

Mit dem Abbruch des Versuchs konnte nicht bis zur vollzähligen Ausbildung der S.S. gewartet werden. Dies ist jedoch insofern kein Fehler, als in diesem Fall mit weiterer Zunahme der Zahl S.S./Gruppe der Anstieg der „Mutationsrate“ nur deutlicher werden könnte.

Bei diesem Versuch stellte sich heraus, daß das verwendete *flavum necans*-Präparat nicht ganz frei ist von auf „Java“-Tabak systemisch wirkenden Verunreinigungen. Umso deutlicher offenbart sich dafür die gegenseitige Depression der beiden Stämme in diesem Versuch: außer der Manifestationswahrscheinlichkeit für den primär nekrotisierenden Stamm steigt auch — wie in den vorhergehenden Versuchen — mit zunehmender Verdünnung die „Mutationsrate“ an; letztere allerdings so langsam, daß der Unterschied zwischen den einzelnen Verdünnungsstufen nicht gesichert ist.

Die gegenseitige depressive Wirkung der Stämme kann also „wegverdünnt“ werden.

#### 5. Mischinfektionsversuch.

Viruspräparate: wie im 2. Mischinfektionsversuch.

Testpflanzen: „Java“-Tabak; die Testpflanzen dieses Versuchs stammten vom gleichen Satz wie im 4. Versuch, waren daher zur Zeit der Infektion schon wesentlich älter als im 4. Versuch.

Inokulation am 20. 10. 55, Versuchsende am 8. 11. 55. Ergebnisse Tabelle 14.

Tabelle 14. *Ergebnisse des 5. Mischinfektionsversuchs*

Konzentration in $\gamma/\text{cm}^3$		Zahl der Pflanzen	Summe der Blätter	Summe aller P.S.	P.S. je Blatt	Manifestations- wahrscheinlichkeit $P_M$ für <i>flavum necans</i>
<i>vulgare</i>	<i>flavum</i> <sup>1</sup> <i>necans</i>					
61,4	139	8	26	95	3,66	$4,57 \times 10^{-2}$
6,14	13,9	8	29	160	5,5	$1,26 \times 10^{-1}$ } $p \leq 10^{-5}$
0,614	1,39	8	28	104	3,7	$2,15 \times 10^{-1}$ } $p \leq 10^{-5}$
0,0614	0,139	8	37	102	2,8	$1,1 \times 10^0$ } $p \leq 10^{-5}$
—	139	8	27	2158	80	—
—	13,9	8	32	1395	43,6	—
—	1,39	8	32	550	17,2	—
—	0,139	8	36	92	2,56	—

<sup>1</sup> Vgl. Fußnote zu Tabelle 13.

Die bei gleicher absoluter Konzentration an *flavum necans* viel kleineren Infektionserfolge dürften im wesentlichen auf das gegenüber dem Material von Versuch 4 höhere Alter der Blätter und auf die besonders ungünstige Jahreszeit zurückzuführen sein. Der Versuch mußte abgebrochen werden, bevor die S.S. ausgebildet waren, deshalb fehlen Angaben über die S.S. und die „Mutationsrate“.

Dieser Versuch bestätigt die Befunde aus dem vorhergehenden. Noch deutlicher als im 4. Versuch macht sich hier der Anstieg der Manifestationswahrscheinlichkeit für *flavum necans* mit zunehmender Verdünnung der Mischung bemerkbar. Sie ist zwischen allen Gruppen sehr gut gesichert. Als weiterer Anhaltspunkt für das Nachlassen der Konkurrenz zwischen den beiden Mischungspartnern kann die mit zunehmender Verdünnung wachsende Größe der Nekrosen gewertet werden: bei den höheren Konzentrationen der Mischung sind die P.S. sehr klein und erscheinen mehrere Tage später gegenüber den normal ausgebildeten der letzten Verdünnungsstufe und aller Kontrollgruppen.

### Diskussion

Die Versuche, an reinen Viruslösungen durch Bestrahlung mit Röntgen- oder UV-Strahlen beim TMV die Mutationsrate zu erhöhen, blieben erfolglos. Sie befinden sich mit diesem negativen Ergebnis in bester Übereinstimmung mit allen an Bakteriophagen angestellten Versuchen. Selbst die Versuche von WEIGLE (WEIGLE und DULBECCO 1953, WEIGLE 1953), die nach unabhängiger Bestrahlung von Phagen und Bakterien einen positiven Effekt zeigten, werden nunmehr nicht mehr als eine Erhöhung der Mutationsrate, sondern als durch die Strahlung erhöhter Einbau von Bakteriennucleinsäure in den Phagen gedeutet.

Wenn die hier mitgeteilten Versuche in gewissen Einzelheiten auch von denen GOWENS abweichen (z. B. Bestrahlung von trockenem Virus mit weichen Röntgenstrahlen bei GOWEN und von Viruslösungen mit harten Röntgenstrahlen bzw. UV bei uns), im wesentlichen stimmen sie in der Technik überein. In den Versuchen GOWENS fehlen allerdings — und das ist, wie unsere Analyse zeigt, der entscheidende Fehler — Kontrollen, die durch Verdünnung auf die Konzentration an aktivem Virus gebracht worden waren, die die Versuchslösungen nach der Bestrahlung aufwiesen. In den hier mitgeteilten Versuchen und vor allem in



denen mit künstlichen Mischungen eines primär nekrotisierenden Stammes<sup>1</sup> in hoher Konzentration mit einem systemisch wirkenden Stamm<sup>1</sup> in geringer Konzentration tritt aber eine scheinbare Erhöhung der „Mutationsrate“ (vgl. S. 117) allein durch Verdünnen auf. Die Wahrscheinlichkeit für primäre Nekrosen verursachende Partikel, in Mischung mit einer hohen Konzentration systemisch wirkender Stämme zur Manifestation zu kommen, verhält sich ebenso: ausgehend von z. T. sehr kleinen Werten erreicht sie allein durch Verdünnen der Virusmischung den Wert 1 (s. S. 122); d. h. die starke gegenseitige Beeinflussung der miteinander in „Konkurrenz“ stehenden Virusstämme wird durch genügend große, durch das Verdünnen der Lösung gewonnene Entfernung der Infektionsherde aufgehoben.

Diese Effekte können am besten durch die in der Virusforschung bekannten Begriffe der „Interferenz“ oder „cross immunity“ erklärt werden: Zellkomplexe, die bereits von einem Stamm eines Virus besetzt sind, gestatten nicht mehr die Vermehrung eines anderen Stammes des gleichen Virus. Die systemisch wirkenden Stämme sind für die Ausbildung von (Sekundär-)Symptomen darauf angewiesen, den Anschluß an das Adernetz des primär infizierten Blattes zu erreichen. Das wird ihnen relativ um so häufiger gelingen, je weniger solcher Stellen schon von dem anderen Stamm besetzt sind. Andererseits wird die Entwicklung lokalknekrotischer Infektionsherde zu makroskopisch sichtbaren Läsionen nur solange ungestört fortschreiten können, wie um diese herum noch virusfreie Zellen für die Vermehrung und Ausbreitung des primär nekrotisierenden Stammes zur Verfügung stehen. Die Ergebnisse der hier beschriebenen Versuche sind ein klarer Beweis für die Richtigkeit dieser Vorstellungen.

Sie geben ferner eine Bestätigung für die von SADASIVAN (1940) postulierte „competition between entry points“. Nach SADASIVAN ist der Infektionserfolg auf *Nicotiana sylvestris* lokalknekrotisierenden *aucuba*-TMV, wenn dieses in Mischlösung mit — höher konzentriertem — systemischem TMV appliziert wird. *kleiner, als wenn es einen Tag nach vorhergehender Inokulation des systemischen Virus* auf die Blätter aufgegeben wird. Beim Einreiben der Blätter wird eine begrenzte Zahl von „entry points“ für das Virus freigelegt (SADASIVAN). Beim Einreiben einer Mischlösung müssen sich normal-TMV und *aucuba*-TMV in eine bestimmte Zahl solcher „entry points“ teilen, die bei getrennter Inokulation jedem Stamm für sich zur Verfügung stehen. Die Ergebnisse unserer Verdünnungsexperimente mit fertigen Virusmischungen lassen sich durchaus als eine Folge dieser „competition between entry points“ auffassen. Diese Konkurrenz um die Infektionsstellen wird gemeinsam mit der „cross immunity“ und der Nekrosendichte für die Manifestationswahrscheinlichkeit eines Viruspartikels verantwortlich sein.

Auffallend ist nur, daß auch bei sehr hohen Verdünnungen der Mischungen, d. h. bei sehr wenigen Infektionsstellen je Blatt und somit großen Abständen zwischen diesen, ein Anstieg der Mutationsrate *immer* beobachtet wurde: 16 Einzelwerte für die Änderung der „Mutationsrate“ von primär nekrotisierenden Stämmen zu systemischen liegen stets in der richtigen Richtung. Auch bei sehr niedrigen Viruskonzentrationen sind die Anstiege z. T. gut (Tabelle 9, Spalte 5 → 6,

<sup>1</sup> Vgl. Abb. 1.

Tabelle 11 und 12), andere weniger gut (Tabelle 9, Spalte 4  $\rightarrow$  5, Tabelle 11) gesichert<sup>1</sup>. Dadurch wird eine genauere Untersuchung der Verhältnisse bei besonders geringen Infektionsdichten erforderlich. Im wesentlichen müssen 2 Möglichkeiten berücksichtigt werden: 1. die der Mitwirkung nichtinfektöser Viruspartikel am Zustandekommen der beschriebenen Interferenzphänomene, und 2. die der gegenseitigen Beeinflussung zweier miteinander konkurrierender Stämme weit über den Bereich der eigentlich infizierten Zellen hinaus. Für erstere gibt es Hinweise. Die bestrahlten Präparate (Tabelle 9) enthalten durchschnittlich auf ein infektiöses Partikel etwa  $10^5$ — $10^6$  nichtinfektöse mehr als die unbestrahlten Kontrollen. Die Aktivität des in den Mischinfektionsversuchen 2—5 verwendeten *flavum necans*-Präparates ist auf Grund von Tests auf *Nicotiana glutinosa* auf  $\gamma$ N bezogen etwa 1/10—1/100 der des zugemischten *vulgare*-Präparates<sup>2</sup>. In beiden Fällen ist demnach die Summe der auf das Blatt aufgetragenen infektiösen und nichtinfektösen Partikel um einen entsprechenden Faktor größer, als sie auf Grund der Infektionserfolge unter Zugrundelegung normaler Infektionschancen je Partikel üblicherweise angenommen werden dürfte. — Gegen die zweite Möglichkeit (die der gegenseitigen Beeinflussung zweier miteinander konkurrierender Stämme weit über den Bereich der eigentlich infizierten Zellen hinaus) sprechen die Ergebnisse der Mischinfektionsversuche 4 und 5. In beiden ist bei der letzten Verdünnungsstufe der Mischung die Manifestationswahrscheinlichkeit (vgl. S. 122) für *flavum necans*-Partikel bezogen auf solche in reiner Lösung gleicher Konzentration praktisch = 1, d. h. trotz Gegenwart einer immer noch erheblichen Konzentration an systemischem *vulgare*<sup>1</sup> und damit keineswegs weit voneinander entfernten Infektionsstellen kommen die primär nekrotisierenden *flavum necans*-Partikel ungehindert zur Manifestation. Für den Fall einer antagonistischen Fernbeeinflussung zweier Virusstämme über größere Strecken virusfreier Zellen ist ein solches Ergebnis in hohem Maße unwahrscheinlich. Eine Entscheidung zwischen dieser Möglichkeit und der der Blockierung einer Zelle für die Vermehrung eines Virusstammes durch „Resorption“ nichtinfektöser Viruspartikel eines anderen ist experimentell möglich. Sie wird durch Infektionsversuche mit infektiösem Virus eines Stammes in Mischung mit nichtinfektiösem Virus eines anderen und durch Versuche mit Mischinfektionen bei sehr starker Verdünnung (analog den Mischinfektionsversuchen dieser Arbeit) angestrebt.

Auf Grund der hier mitgeteilten Ergebnisse kann abschließend — unbeeinflusst von deren spezieller Deutung — festgestellt werden, daß die von GOWEN beschriebene Erhöhung der Mutationsrate mit Sicherheit ein Scheineffekt gewesen ist. Durch Vergleich mit entsprechenden Kontrollen hat sie eine wesentlich plausiblere Deutung als Konkurrenzphänomen gefunden und wäre wohl kaum als

<sup>1</sup> Für die Ergebnisse des 4. und 5. Mischinfektionsversuchs (Tabelle 13 und 14) ergeben sich keine nennenswerten Deutungsschwierigkeiten, da bei dem hier angewendeten Aktivitätsverhältnis *vulgare*:*flavum necans* das *vulgare* bei weitem überwiegt, und auf eine *flavum necans*-Nekrose je Blatt noch etwa 5—50 nicht sichtbare *vulgare*-Infektionsstellen entfallen, u. U. sogar noch mehr.

<sup>2</sup> Die ungünstigen Aktivitätsverhältnisse des *flavum necans*-Präparates sind wahrscheinlich eine Folge der Präparation: *flavum necans* ist ein sehr empfindlicher Gelbstamm, der bei der Aufarbeitung — insbesondere während der hier angewendeten Hitzeoagulation der Normalproteine (15 min bei 60°) — möglicherweise sehr starke Aktivitätseinbußen erleidet.

solche gedeutet worden, wenn die Möglichkeit einer Verschiebung von Selektionsgleichgewichten berücksichtigt worden wäre. Damit entbehrt die Annahme einer direkten mutagenen Wirkung von Strahlen auf Viruspartikel, die sich außerhalb der lebenden Zelle befinden und die verschiedenen Versuche, die von GOWEN beobachtete Erhöhung der „Mutationsrate“ biophysikalisch und allgemein theoretisch zu deuten (z. B. LEA 1947, OPATOWSKI 1949), jeglicher Grundlage. Andererseits mehren sich in der Mutationsforschung an Bakterien, Pilzen, höheren Pflanzen und Tieren ständig die Beweise für eine vorwiegend indirekte Wirkung der Strahlen. Es ist zwar auch heute noch gewiß, daß die Strahlen z. T. direkt im genetischen Material absorbiert werden und dann auch mutagen wirken. Aber ob nicht auch in diesen Fällen primär die Überstruktur der Chromosomen betroffen wird, ist zumindest ungeklärt. Anhaltspunkte für die speziellere biophysikalische Vorstellung, wie sie TIMOFÉEFF, ZIMMER und DELBRÜCK formuliert haben, hätte die Mutationsforschung mit Strahlen an Viren erbringen können. Alle bisherigen und auch die hier beschriebenen Versuche sind aber ohne Erfolg geblieben.

Die Arbeit wurde von Herrn Prof. Dr. G. MELCHERS angeregt und unter seiner Anleitung begonnen. Für die stets freimütige und großzügige Unterstützung möchte ich ihm auch an dieser Stelle besonders herzlich danken. Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. F. SCHNEIDER für die Möglichkeit, die Arbeiten an seinem Institut fortzusetzen, sowie Frl. U. ENGELMANN, Frl. Dipl. agr. I. GOTTSCHALK und Frau H. PLATE für ihre Mithilfe bei den Infektionen und der Herstellung der Viruspräparate.

### Summary

Pure solutions of TMV were irradiated with x-rays or ultraviolet light in order to study possible effects on the mutation rate of the virus. If no spontaneous mutations were observed in a particular virus preparation, no induced mutations resulted from irradiation. In preparations showing spontaneous mutations, the „rate of mutation“ was increased by irradiation only if the exposed material was compared with unirradiated virus diluted so as to give more lesions per leaf than the irradiated sample. The apparent mutation rate increased with dilution of active virus, whether this dilution was effected by irradiation or by the direct addition of phosphate buffer. Artificial unequal mixtures of two related virus strains, with either in the majority, were tested at different dilutions of the whole; without exception the symptoms of that partner present in minority became relatively more frequent with decreasing total concentration of the mixture.

The effects observed here, as well as those described by GOWEN (1941), can readily be explained on the basis of competition between related virus strains. The evidence does not support an hypothesis of mutagenic action of irradiation on purified TMV preparations.

### Literatur

- AACH, H. G.: Im Druck, 1957. — FRIEDRICH-FREKSA, H., G. MELCHERS u. G. SCHRAMM: Biologischer, chemischer und serologischer Vergleich zweier Parallelmutanten phytopathogener Viren mit ihren Ausgangsformen. Biol. Zbl. **65**, 187 (1946). — GOWEN, T. W.: Mutation in *Drosophila*, bacteria and viruses. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **9**, 187 (1941). — HARRIS, J. I., and C. A. KNIGHT: Action of carboxypeptidase on tobacco mosaic virus. Nature (Lond.) **170**, 613 (1952). — HOLMES, F. O.: Masked strain of tobacco mosaic virus. Phytopathology **24**, 845 (1934). — Comparisons of derivatives from distinctive strains of



tobacco mosaic virus. *Phytopathology* **26**, 896 (1936). — JENSEN, J. H.: Isolation of yellow mosaic viruses from plants infected with tobacco mosaic virus. *Phytopathology* **23**, 934 (1933). — Studies on the origin of yellow mosaic viruses. *Phytopathology* **26**, 266 (1936). — Studies on representative strains of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* **27**, 69 (1937). — KNIGHT, C. A.: The nature of some of the differences among strains of tobacco mosaic virus. *J. of Biol. Chem.* **171**, 298 (1947). — KOLLER, S.: Graphische Tafeln zur Beurteilung statistischer Zahlen. Dresden u. Leipzig: Theodor Steinkopff 1943. — KRAMER, E.: Im Druck, 1957. — LEA, D. E.: Actions of radiations on living cells. Cambridge: University Press 1947. — MCKINNEY, H. H.: Evidence of virus mutation in the common mosaic of tobacco. *J. Agricult. Res.* **51**, 951 (1935). — Virus mutation and the gene concept. *J. Hered.* **28**, 51 (1937). — MELCHERS, G.: Über einige Mutationen des Tabakmosaikvirus und eine „Parallelmutation“ des Tomatenmosaikvirus. *Naturwiss.* **30**, 48 (1942). — MELCHERS, G., G. SCHRAMM, H. TRURNT u. H. FRIEDRICH-FREKSA: Die biologische, chemische und elektronenmikroskopische Untersuchung eines Mosaikvirus aus Tomaten. *Biol. Zbl.* **60**, 524 (1942). — MELCHERS, G., u. W. MUNDY: „Mutation“ und „Rückmutation“ beim Tabakmosaikvirus in Abhängigkeit von der Kulturtemperatur der Wirtspflanzen: *Proc. 9. Internat. Congr. Genetics* 1953. *Caryologia (Pisa) Suppl.* **1954**. — MUNDY, W.: Die Abhängigkeit des Auftretens neuer Virusstämme von der Kulturtemperatur der Wirtspflanzen. Im Druck, 1957. — NORVAL, I. P.: Derivatives from an unusual strain of tobacco mosaic virus. *Phytopathology* **28**, 675 (1938). — OPATOWSKY, J.: On the mutation of tobacco mosaic virus. *J. Gen. Physiol.* **33**, 171 (1949). — PFANKUCH, E. G., A. KAUSCHE u. H. STUBBE: Über die Entstehung, die biologische und physikalisch-chemische Charakterisierung von Röntgen- und  $\gamma$ -Strahlen induzierten „Mutationen“ des Tabakmosaikvirusproteins. *Biochem. Z.* **304**, 238 (1940). — POLLARD, E.: The physics of viruses. New York: Academic Press 1953. — SADASIVAN, T. S.: A quantitative study of the interaction of viruses in plants. *Ann. Appl. Biology* **27**, 359 (1940). — SCHRAMM, G.: Die Biochemie der Viren. Berlin: Springer 1954. — SCHRAMM, G., u. G. BRAUNTZER: Prolin als Endgruppe des TMV. *Z. Naturforsch.* **8b**, 61 (1953). — SCHRAMM, G., u. L. REBENBURG: Zur vergleichenden Charakterisierung einiger Mutanten des TMV. *Naturwiss.* **30**, 48 (1942). — SINNOT, E., W. DUNN u. TH. DOBZHANSKI: Principles of genetics. New York: Mc Graw-Hill Book Comp. 1950. — STANLEY, W. M., u. C. A. KNIGHT: The chemical composition of strains of tobacco mosaic virus. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **9**, 225. (1941). — TIMOFÉEFF, N. W., K. G. ZIMMER u. M. DELBRÜCK: Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. *Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl., Fachgruppe VI*, N. F. **1**, 189 (1935). — TROLL, W.: Das Virusproblem in ontologischer Sicht. Wiesbaden: Franz Steiner 1951. — WEIGLE, J. J.: Induction of mutations in a bacterial virus. *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.* **39**, 628. Zit. nach W. WEIDEL, *Fortschr. Bot.* **17**, 878 (1953). — WEIGLE, J. J., u. R. DULBECCO: Induction of mutations in bacteriophage T<sub>3</sub> by ultraviolet light. *Experientia (Basel)* **9**, 372 (1953). Zit. nach W. WEIDEL s. oben.

Dr. K.-W. MUNDY, Braunschweig, Langer Kamp 5

Aus dem Max-Planck-Institut für Biologie, Abt. MELCHERS, Tübingen

## UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE BEDEUTUNG VON TEMPERATUR UND GENETISCHER KONSTITUTION FÜR DIE MUTABILITÄT VON BAKTERIOPHAGEN\*

Von

H. G. WITTMANN

(Eingegangen am 15. Oktober 1956)

### Einleitung

Der Einfluß der Temperatur auf die Mutationsrate ist häufig Gegenstand experimenteller Untersuchungen gewesen, und bekanntlich hat die vielfach aufgefundene positive Temperaturabhängigkeit der Mutationsrate bei der Bildung von Hypothesen über die Art des Mutationsvorgangs eine beträchtliche Rolle gespielt (z. B. TIMOFÉEFF, ZIMMER und DELBRÜCK 1935). Vorurteilsfrei betrachtet zeigen die in der Literatur vorliegenden Ergebnisse allerdings nicht die Einheitlichkeit, die zur Sicherung der Grundlagen für eine Theorie wünschenswert wären. Die Ursachen für die Uneinheitlichkeit der Ergebnisse können, abgesehen von mangelhafter Versuchstechnik oder zu geringen Beobachtungszahlen, einerseits in der komplizierten und der im physikochemischen Detail noch unbekannten Art der Einlagerung der Gene in Überstrukturen, wie es die Chromosomen sind, liegen. Es ist andererseits aber auch möglich, daß der Mutationsvorgang selbst gar nicht so beschaffen ist, daß ihm in jedem Falle ein Temperaturkoeffizient in der Größenordnung chemischer Reaktionen zukommt.

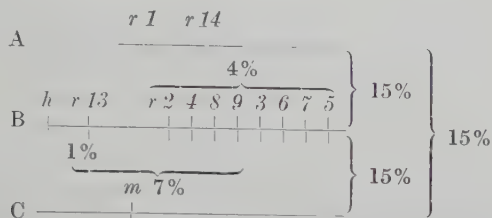
Es erscheint daher lohnend, experimentelle Untersuchungen an Objekten möglichst einfacher Struktur vorzunehmen. Von den Viren dürfen wir z. Z. annehmen, daß ihre „Gene“ allein in der Struktur ihrer Nucleinsäure begründet sind. Bei phytopathogenen Viren gibt es Anhaltspunkte dafür, daß die Mutationsrate mit der Temperatur, bei der die Wirts-Pflanzen gehalten werden, ansteigt. Eine endgültige Klärung, ob die beobachteten Phänomene eindeutig in diesem Sinne zu interpretieren sind, oder ob sie auch eine Deutung als mit der Temperatur veränderter Selektionsbedingungen zulassen, steht noch aus (MUNDRY 1954 und MELCHERS unveröffentlicht).

Bei Bakteriophagen bestand die Hoffnung, experimentell eindeutig zwischen Veränderung der Mutationsrate und selektionistischen Phänomenen unterscheiden zu können. Der erste Teil dieser Veröffentlichung stellt solche Versuche und ihre Ergebnisse dar.

Im Verlauf der Experimente tauchte der Verdacht auf, daß die Mutabilität des „*h*-Locus“ beim Phagen T2 vom genotypischen Milieu abhängig sei. Bei diesem Phagen gibt es eine Anzahl von sog. *r*-Stämmen, die sich untereinander zwar nicht durch die von ihnen gebildeten Plaque-Form unterscheiden (sie geben alle große, klare Plaques im Gegensatz zum Wildtyp mit kleineren Plaques, die außerdem noch einen Hof besitzen), die aber durch folgendes Experiment voneinander differenziert werden können. Bei Kreuzungen von zwei verschiedenen *r*-Stämmen treten in der Nachkommenschaft Phagen des Wildtyps auf, Rekombinationen,

\* Dissertation der math.-naturw. Fakultät der Univ. Tübingen.

deren Häufigkeit als Folge des Abstands in einer Kopplungsgruppe gedeutet werden. Auf Grund solcher Kreuzungsanalysen ( $T2r \times T2h$  ergibt  $T2rh$  und  $T2r^+h^+$  als Rekombinanten) haben HERSHEY und ROTMAN (1949) folgende „Genkarte“ für den T2 aufgestellt:



Die Prozentzahlen geben an, wieviel Prozent Rekombinanten des Wildtyps man bei 2-Faktor-Kreuzungen erhält. — Inzwischen hat sich herausgestellt (LEVINTHAL und VISCONTI 1953 sowie DOERMAN 1953), daß bei Verlängerung der Periode bis zur Lyse die Prozentzahl der Rekombinanten ansteigt. Außerdem liegen nach neueren Experimenten (BRUCE; persönliche Mitteilung) nicht, wie oben ersichtlich, drei Kopplungsgruppen vor; die Gene der Gruppen A und B sind ebenfalls gekoppelt. Wenn es sich nach z. Z. laufenden Untersuchungen herausstellen sollte, daß auch C mit A und B verbunden ist, ließen sich alle bekannten Gene in einer Kopplungsgruppe zusammenfassen.

Die im zweiten Teil dieser Veröffentlichung behandelte Frage heißt also: Ist die Mutabilität des „*h*-Locus“ davon beeinflusst, ob wir *r* in einem eng damit gekoppelten Locus (13), in einem entfernteren (2, 4, 8, 9, 3, 6, 7, 5) oder gar extrem entfernten (14, 1) lokalisiert haben?

## Experimenteller Teil

### I. Material und Methoden

Für die Experimente wurden verschiedene Bakterienstämme von *Escherichia coli* und mehrere Phagenstämme der T-Serie benutzt.

Phagen:  $T2r^+$  (Wildtyp), verschiedene  $T2r$ -Stämme ( $T2r1$ ,  $T2r3$  u. a.) sowie T7.

Bakterien: Die Stämme B/2 und 2B/2H, 2K (im folgenden abgekürzt als B/2H bezeichnet), ferner: B, H, S sowie B/3, 4, 7. Während die Stämme B, H und S sämtliche T-Phagen adsorbieren, sind B/2 bzw. B/2H gegen T2 und  $T2r$ , ferner B/3, 4, 7 gegen T3, T4 und T7 resistent.

Die mit einer Ziffer versehenen  $T2r$ -Stämme ( $T2r1$  usw.) sowie die Bakterienstämme 2B/2H, 2K ebenso H und S stammen von Dr. HERSHEY (Cold Spring Harbor, N. Y.), alle anderen Bakterien- und Phagenstämme aus dem Labor von Dr. WEIDEL, Max-Planck-Institut für Biologie, Tübingen.

Als Nährmedien wurden benutzt: „Difco bacto nutrient broth“ (wenn nicht anders angegeben) und zwar 0,8%; ferner „Difco bacto tryptone“ (1,0%) und „Merck Standard I“ (2,5%). Die zu dem Nährmedium zugegebene Kochsalzmenge war verschieden: Bei den Temperaturversuchen betrug sie durchweg 5 g NaCl/Liter. Für die Experimente mit den amerikanischen Phagen wurde die optimale Kochsalzkonzentration für die Plattierungen auf den betreffenden Bakterienstämmen ausgetestet; sie ist jeweils im Text angegeben. Wenn nicht anders erwähnt, wurde das Agar-Nährmedium durch Zusatz von NaOH auf pH 7 gebracht.

Alle Plattierungen erfolgten nach der „top-layer-Methode“ (Platten: 1,4% Agar, top layer: 0,7% Agar). Bei diesem Verfahren wird in einer Petri-Schale eine dünne Schicht flüssigen Agars (sog. top layer) auf eine dicke und feste Agarschicht gebreitet, die etwa 15–20 Std bei 37° vorgetrocknet worden ist. Vor dem Ausgießen werden zum top-layer-Agar, der eine Temperatur von 45° hat, die Phagen in gewünschter Menge sowie ein Tropfen einer dichten Bakteriensuspension hinzugegeben. Nach etwa 6–8 Std bildet sich bei 37° auf der Agarschicht ein Bakterienrasen; in ihm entstehen an den Stellen, an denen sich Phagen befinden, Löcher (sog. Plaques), die dadurch zustande kommen, daß dort die Bakterien infiziert werden und lysieren. Aus der Plaquezahl läßt sich unter Berücksichtigung der Verdünnung die Phagenzahl in der Ausgangssuspension berechnen.



## II. Hat die Temperatur einen Einfluß auf die Mutationsraten von Bakteriophagen?

Die folgenden Versuche haben das Ziel zu prüfen, ob und gegebenenfalls in welchem Ausmaß die Temperatur einen Einfluß auf Bakteriophagenmutationen ausübt.

Zur Prüfung dieser Frage wurden mehrere Phagenstämme aus dem Labor von Dr. WEIDEL benutzt, bei denen jeweils die Mutation von  $h^+ \rightarrow h$  untersucht wurde.

### 1. Prinzip der Experimente

Die Durchführung der Versuche erfolgte nach folgendem Schema: B-Bakterien in der logarithmischen Wachstumsphase wurden durch den  $h^+$ -Typ des jeweiligen Phagenstammes mit einer Infektionszahl von mindestens 5 infiziert, so daß praktisch alle Bakterien mindestens einen Phagen adsorbieren. Nach einer kurzen Adsorptionszeit (bei  $37^\circ$ ) wurde die infizierte Bakteriensuspension in mehrere gleichgroße Volumina geteilt und diese bei verschiedener Temperatur gehalten. Die infizierten Bakterien kamen vor dem Beginn der Lyse auf Platten, welche mit dem betreffenden gegen den  $h^+$ -Typ resistenten Bakterienstamm (z. B. B/2) angeimpft waren.

Auf diesen Platten starten nur diejenigen der infizierten Bakterien einen Plaque, die entweder durch die  $h$ -Phagen infiziert werden, welche bereits in der zur Infektion benutzten Phagensuspension vorhanden sind, oder in denen während der Vermehrung der  $h^+$ -Phagen  $h$ -Mutanten neu entstehen. Da bei einer Infektionszahl von 5 praktisch alle Bakterien infiziert sind und die  $h^+$ -Nachkommen die für sie resistenten Bakterien auf der Platte nicht infizieren können, ist die Zahl der Plaques nach Abzug der bei der Infektion vorhandenen  $h$ -Phagen (sog. „ $h$ -input“) gleich der Zahl derjenigen B-Bakterien, in denen während der Latenzperiode unter den betreffenden Temperaturverhältnissen  $h$ -Mutanten auftreten. Daß in einem Bakterium mehr als eine Mutation geschieht, ist auf Grund der gegebenen Zahlenverhältnisse praktisch nicht möglich; ein Bakterium produziert im besten Fall bis zu  $10^3$  Phagen, während die Mutationsrate für die  $h$ -Mutation ungefähr bei  $10^{-7}$  liegt.

### 2. Untersuchte Mutationsschritte

a)  $T2h^+ \rightarrow T2h$ . In Abwandlung der obenerwähnten schematisierten Methode erfolgten die Untersuchungen an T2 so, daß bei  $37^\circ$  in Puffer infiziert wurde, wobei der Vermehrungsprozeß der Phagen nicht über das Stadium der Injektion der Phagennukleinsäure hinauskommt. Damit die Phagenvermehrung einsetzen konnte, wurde nach der Adsorption entweder (Fall  $\alpha$ ) in Nährmedium von verschiedener Temperatur resuspendiert oder (Fall  $\beta$ ) aus der in Puffer befindlichen infizierten Bakteriensuspension direkt auf B/2-Platten plattiert, die vorher auf verschiedene Temperatur gebracht worden waren.

$\alpha$ ) *Adsorption in Puffer und Resuspension in Nährmedium von verschiedener Temperatur.* Der genaue Verlauf der Experimente dieser Versuchsserie war folgender: In der logarithmischen Wachstumsphase befindliche B-Bakterien wurden zentrifugiert, in Gelatine-Salz-Puffer von  $37^\circ$  resuspendiert und mit T2 infiziert. Von der Infektionssuspension wurden mehrere gleichgroße Volumina zentrifugiert und die Sedimente mit gleichen Mengen Nährbrühe von verschiedener

Temperatur resuspendiert. Die Plattierung auf B/2 erfolgte vor der Lyse aus den bei verschiedener Temperatur gehaltenen Suspensionen, desgleichen die Bestimmung der Zahl der infizierten Bakterien durch Plattierung auf B.

Die Ergebnisse der drei nach dieser Versuchsanordnung durchgeführten Versuche stimmen überein: Während die Zahl der Plaques auf B die ganze Plattierungszeit über im wesentlichen konstant blieb, war dies bei Plattierung auf B/2 nicht der Fall. Hierbei stiegen die Plaquezahlen zunächst etwas an und nahmen dann im Laufe der Zeit allmählich ab, um gegen Ende der Plattierungszeit sehr viel geringere Werte zu erreichen. Diese Abnahme ging um so schneller vor sich, je höher die Temperatur der zur Resuspension benutzten Nährbrühe war. Daß die Zahl der Plaques auf denjenigen Platten, die nach dem Ende der Latenzperiode plattiert wurden, mehr und mehr abnimmt, geht darauf zurück, daß ein erheblicher Teil der Phagen an Bakterientrümmern adsorbiert wird und für die weitere Vermehrung ausfällt. Diese Abnahme der Plaquezahlen infolge von Readsorption kommt bei Plattierung auf B/2 stärker zum Ausdruck als bei der auf B. Dies läßt sich folgendermaßen erklären: Im Gegensatz zur Plattierung auf B/2 wird die Suspension bei der Plattierung auf B stark verdünnt; dabei platzt ein Teil der Bakterien, und die Phagen können bei der Verdünnung nicht mehr readsorbiert werden, so daß es zu keiner Abnahme der Plaquezahlen auf B kommt.

*β) Adsorption in Puffer und Plattierung auf Platten von verschiedener Temperatur.* Bei dem T2-Stamm tritt in dichten Bakteriensuspensionen Lysehemmung auf. Dabei ist bis zu 3 Std nach der Infektion kein Anstieg der Plaquezahlen bei Plattierung auf B festzustellen. Das gilt für belüftete und unbelüftete Kulturen.

Es ist nicht möglich, in diesen Kulturen den genauen Zeitpunkt des Lysebeginns zu bestimmen. Um diese Schwierigkeit auszuschalten, wurde die Versuchsmethode so abgeändert, daß die Bakterien sofort nach der Infektion auf Platten von verschiedener Temperatur gebracht wurden, so daß die Phagenentwicklung von Anfang an auf Platten der gewünschten Temperatur vor sich ging.

Die Experimente nach dieser Methode, bei der der Zeitpunkt des Lysebeginns nicht bestimmt zu werden brauchte, wurden folgendermaßen ausgeführt: In der logarithmischen Wachstumsphase befindliche B-Bakterien wurden zentrifugiert, in Gelatine-Salz-Puffer resuspendiert und mit T2 infiziert. Aus dieser Suspension heraus erfolgte die Plattierung auf Platten, die bereits einige Zeit vorher auf die gewünschten Temperaturen gebracht waren und diese behielten. Um den Einfluß der Infektionszahl zu prüfen, erfolgte die Infektion entweder (Fall aa) mit einer Infektionszahl über 5 oder (Fall bb) mit einer Infektionszahl unter 5.

aa) Infektionszahl über 5. Durch dieses Verfahren wurde erreicht, daß alle Bakterien infiziert und sofort nach der Adsorption der Phagen auf die gewünschten Temperaturen gebracht wurden, so daß der gesamte Phagenvermehrungszyklus bis zum Platzen der Bakterien auf der Platte bei der jeweils festgelegten Temperatur ablief, ohne daß eine Feststellung des Lysezeitpunktes notwendig war. Schwierigkeiten, die dadurch auftraten, daß der top-layer-Agar oberhalb etwa 33° nicht mehr richtig fest wurde, wurden durch entsprechende Maßnahmen soweit wie möglich ausgeschaltet. Dennoch waren die Plaques auf den Platten

mit hoher Temperatur gegenüber den anderen ungleich: Normale wechselten mit kleinen Plaques ab.

Nach der geschilderten Versuchsanordnung wurden in mehreren Experimenten folgende Ergebnisse erhalten: Es zeigte sich übereinstimmend ein Abfallen der Plaquezahlen auf B/2 mit steigender Temperatur zwischen 19 und 36°. Unterhalb 19° nahm die Plaqueanzahl rapide ab, doch dürfte das auf Störungen durch die unphysiologisch tiefe Temperatur zurückzuführen sein.

Wurde zur Bestimmung der Mutantenhäufigkeit, d. h. der Zahl der in einer T2-Suspension als Mutanten aufgetretenen T2h-Phagen, ein Teil dieser Suspension auf B/2-Platten, die vorher auf verschiedene Temperaturen gebracht waren, plattiert, so traten auf den Platten oberhalb etwa 30° sehr viel weniger Plaques als auf den übrigen auf. Diese Abnahme war bedeutend stärker, als wenn mit T2h-vorinfizierte B-Bakterien auf B/2 plattiert wurden.

Die Plattierungen auf B wiesen unter den gleichen Bedingungen eine wesentlich geringere Abhängigkeit von der Temperatur auf: Bei der Plattierung freier T2-Phagen auf B trat nur eine relativ kleine Differenz bei verschiedenen Temperaturen auf, die in der gleichen Richtung wie bei B/2 lag, während infizierte Bakterien innerhalb des Bereiches von 19–36° konstante Werte auf B ergaben. Die Temperaturabhängigkeit fiel ebenfalls fort, wenn mit T2h infizierte B/2-Bakterien auf B/2 plattiert wurden. Die Abhängigkeit der Plaquezahlen von der Temperatur ist also bedeutend größer, wenn freie Phagen statt infizierter Bakterien plattiert werden.

Diese nach der geschilderten Methode erhaltenen Ergebnisse lassen sich auf einen indirekten Einfluß der Temperatur (z. B. durch Beeinflussung der Agarkonsistenz oder Veränderung der Plattenwirksamkeit) zurückführen. Daß die Temperatur keinen Einfluß auf die Anzahl der auf B/2 erscheinenden Plaques ausübt, beweist folgender Versuch: Wenn man mit T2 infizierte B-Bakterien während der Latenzperiode auf B/2-Platten bringt, diese genau 20 min bei Zimmertemperatur liegen läßt, bis der Agar fest geworden ist, und dann deren einen Teil bei 35° und deren anderen bei 22° C bis zum Auszählen der Plaques aufbewahrt, so ergeben sich keine statistisch gesicherten Unterschiede in den Plaquezahlen.

bb) Infektionszahl unter 5. In den Experimenten, in denen die Infektionszahl weniger als 5 betrug, die jedoch sonst wie die zuletzt geschilderten Versuche durchgeführt wurden, ergab sich die gleiche Abhängigkeit der Plaquezahlen von der Temperatur, wie eben geschildert, nämlich eine Abnahme der Plaquezahlen mit steigender Temperatur (21–36°).

Für eine bestimmte Temperatur stieg mit abnehmender Infektionszahl die Zahl der Plaques auf B/2 zunächst an und fiel dann wieder ab. — Dafür läßt sich folgende Erklärung geben: Wenn nur ein Teil der Bakterien infiziert wird, so kann sich der andere auf der Platte ungestört vermehren, bis nach und nach die sensiblen Bakterien infiziert werden. Da die Gesamtzahl der infizierten Bakterien in der Zwischenzeit größer geworden ist, erhöht sich dabei auch die Zahl der Mutanten.

Wenn nur dieser Mechanismus beteiligt ist, so müssen mit abnehmender Infektionszahl die Plaquezahlen auf den B/2-Platten ansteigen. Dies war jedoch nur in einem Versuch der Fall; in den übrigen 3 Experimenten ergab sich statt



dessen eine Gipfelkurve. Bei ganz kleinen Infektionszahlen müßte demnach ein Teil der B-Bakterien auch auf der Platte entweder nicht oder so spät infiziert werden, daß es zu keiner sichtbaren Plaquebildung mehr kommt.

b)  $T2rh^+ \rightarrow T2rh$ . Die folgenden Experimente haben das Ziel, die Frage, ob die Temperatur einen Einfluß auf die Höhe der Mutationsrate besitzt, an Hand der Mutation:  $T2rh^+ \rightarrow T2rh$  zu prüfen. Dabei wurden die B-Bakterien mit einem  $T2r$ -Stamm infiziert, der im Unterschied zu  $T2r^+$  keine Lysehemmung bewirkt.

Die Infektion der Bakterien erfolgte entweder (Fall  $\alpha$ ) in Puffer mit anschließender Resuspension in Nährbrühe von verschiedener Temperatur oder (Fall  $\beta$ ) in Nährbrühe von  $37^\circ$ , worauf nach kurzer Adsorptionszeit die Suspension geteilt und ein Teil auf niedrige Temperatur abgekühlt wurde.

$\alpha$ ) *Adsorption in Puffer und Resuspension in Nährmedium von verschiedener Temperatur.* Wie bereits ausgeführt wurde, geht der Vermehrungszyklus der Phagen bei Adsorption an Bakterien, die sich in Puffer befinden, nicht über das Stadium der Injektion der Phagennukleinsäure in das Bakterium hinaus. Dabei ist es jedoch nötig, wie es sich herausstellte, bei der Infektion zu den in Puffer gewaschenen und resuspendierten Bakterien ebenfalls in Puffer befindliche Phagen hinzuzusetzen, da sonst auch bei Zugabe eines nur kleinen Brühevolumens mit den Phagen deren Entwicklung nicht gänzlich gestoppt wird, was sich in einer scheinbaren Verkürzung der Latenzzeit nach Übertragung der infizierten Kultur in Nährmedium ausdrückt.

Die Durchführung der  $T2r$ -Experimente erfolgte im einzelnen so, daß B-Bakterien in der logarithmischen Wachstumsperiode zentrifugiert, zweimal mit Gelatine-Salz-Puffer gewaschen und darin mit einer Infektionszahl von mindestens 5 infiziert wurden. Nach Adsorption, Aufteilung der infizierten Bakteriensuspension in zwei gleiche Volumina und Zentrifugation wurden die Sedimente mit gleichen Mengen Nährbrühe von verschiedener Temperatur resuspendiert und bei den betreffenden Temperaturen gehalten. Die ganze Latenzperiode über und besonders oft kurz vor Lysebeginn erfolgte Plattierung auf B/2. Alle B/2-Platten blieben nach Festwerden des Agars bei  $37^\circ$ , so daß die Temperatur nur während der Phagenentwicklung in den suspendierten B-Bakterien verschieden war.

Die Zählungen der infizierten Bakterien zeigten, daß auch hier gleich nach dem Lysebeginn Readsorption einsetzt, so daß die Plaquezahlen nach einem anfänglichen Anstieg im Laufe der Zeit immer mehr abnehmen. Das war in allen vier nach der geschilderten Versuchsmethodik ausgeführten Experimenten der Fall. In den folgenden Experimenten wurden daher die Plattierungen auf die Zeit vor dem Lysebeginn beschränkt und die betreffenden Platten der jeweiligen Temperaturwerte miteinander verglichen. Dabei wurde in keinem Fall eine gesicherte Differenz zwischen den Plaquezahlen bei verschiedenen Temperaturwerten gefunden. Von den 4 Versuchen, die nach dieser Methode durchgeführt wurden, ist einer in Tabelle 1 angegeben.

$\beta$ ) *Adsorption in Nährmedium von  $37^\circ$  und Abkühlung eines Teiles der Suspension auf  $19^\circ$ .* Um das Ergebnis der Versuche zu überprüfen, die nach der im vorigen Abschnitt geschilderten Methode erfolgten, wurden bei den nächsten 5 Experimenten die B-Bakterien in Nährmedium mit einer Infektionszahl von 5–7 infiziert. Nach 3 min Adsorptionszeit wurde ein Teil auf  $19^\circ$  gekühlt, während der

Tabelle 1

40 cm<sup>3</sup> Bakteriensuspension zentrifugiert, zweimal in Puffer gewaschen und nach der Resuspension mit 0,65 cm<sup>3</sup> T2r-Suspension (Lysat Nr. 19; in Puffer) infiziert: Infektionszahl: 6,2. In 2 Gläser à 10 cm<sup>3</sup> aufgeteilt, zentrifugiert und mit je 5 cm<sup>3</sup> Nährbrühe von 23 bzw. 37° resuspendiert; daraus auf B/2 sowie auf B plattiert.

Plattierung auf B/2		Plattierung auf B		Bakterientiter z. Zt. der Infektion
23°	37°	23°	37°	
$61 \pm 10^*$ (n = 20)	$56 \pm 8^*$ (n = 21)	$8,0 \times 10^8$ (n = 8)	$7,1 \times 10^8$ (n = 7)	$3,9 \times 10^8/\text{cm}^3$ (n = 5)

Zahl der bereits in der Infektionssuspension vorhandenen Mutanten: 11 je Platte.

\* Mittelwert  $\pm$  mittlere Streuung ( $\sigma$ )

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}},$$

dabei ist:  $d$  = Abweichung eines jeden Einzelwertes vom Mittelwert;  $n$  = Anzahl der Einzelbestimmungen.

Rest dauernd bei 37° blieb. Während der Latenzperiode und besonders kurz vor dem Lysebeginn, der durch Plattierung auf B festgestellt wurde, erfolgte die Plattierung auf B/2 aus den bei verschiedenen Temperaturen gehaltenen Bakteriensuspensionen.

Das Ergebnis war das gleiche wie in den vorhergehenden Experimenten: bei verschiedener Temperatur (19—20° bzw. 37°) trat in allen 5 Versuchen kein signifikanter Unterschied zwischen den Plaquezahlen der B/2-Platten auf. Ein Experiment ist in Tabelle 2 als Beispiel angeführt.

Tabelle 2

20 cm<sup>3</sup> Bakteriensuspension zentrifugiert, mit 10 cm<sup>3</sup> Nährbrühe resuspendiert und mit 2,0 cm<sup>3</sup> T2r-Suspension (Lysat Nr. 54) infiziert: Infektionszahl 6,8. Nach 3 min Adsorption bei 37°: 5 cm<sup>3</sup> auf 19° gekühlt; der Rest blieb bei 37°.

Plattierung auf B/2		Plattierung auf B		Bakterientiter z. Zt. der Infektion
19°	37°	19°	37°	
$41 \pm 4$ (n = 22)	$45 \pm 4$ (n = 18)	$6,5 \times 10^8$ (n = 8)	$6,4 \times 10^8$ (n = 3)	$7,2 \times 10^8/\text{cm}^3$ (n = 6)

Zahl der bereits in der Infektionssuspension vorhandenen Mutanten: 4,5 je Platte.

Eine weitere Bestätigung für den Befund, daß die Temperatur keinen feststellbaren Einfluß auf die Mutationsrate des T2r-Phagen hat, ergibt sich aus folgendem Versuch: Wenn aus einer bei 37° gehaltenen T2r-infizierten Bakteriensuspension vom Beginn bis zum Ende der Latenzperiode zahlreiche (in dem ausgeführten Experiment: 30) Plattierungen auf B/2 erfolgen, so ist die Zahl der Plaques auf allen Platten die gleiche.

Wäre eine nachweisbare Steigerung der Mutationsrate durch die Temperatur eingetreten, so müßte die Zahl der Mutanten auf den Platten, die gegen Ende der Latenzperiode plattiert wurden, höher sein als auf den zu Beginn plattierten. Die hohe Temperatur von 37° hat nämlich auf die zum Ende der Latenzperiode hin plattierten infizierten Bakterien eine wesentlich längere Zeit (nämlich die gesamte Latenzperiode) als bei den übrigen eingewirkt, bei denen nur der erste

Teil der Phagenvermehrung bei 37° ablief, da die Platten Zimmertemperatur besaßen und erst nach dem Festwerden des Agars (20 min) in den Brutschrank (37°) kamen.

γ) *Bestimmung der bei verschiedener Temperatur produzierten Phagenmenge.* Um den Einwand zu prüfen, daß bei hoher Temperatur die Mutationsrate wohl erhöht, dagegen die Phagenproduktion vermindert sei, so daß sich im Endeffekt die gleiche Zahl von Mutanten wie bei niedriger Temperatur mit großer Phagenausbeute und niedriger Mutationsrate ergibt, wurden Bestimmungen der Phagenausbeute bei verschiedener Temperatur in die oben geschilderten Versuche mit aufgenommen sowie getrennt davon durchgeführt.

Dabei war die Schwierigkeit zu umgehen, daß einerseits die Lyse nicht bei allen Bakterien zugleich einsetzt, sondern einige Zeit beansprucht, andererseits ein Teil der zuerst frei gewordenen Phagen in der dichten Suspension sofort wieder adsorbiert wird. Gegen die Durchführung eines Einstufenexperimentes, d. h. sofortige Verdünnung nach der Adsorption, so daß keine Readsorption nach der Lyse mehr stattfindet, kann man einwenden, daß die Verhältnisse in dichten und dünnen Suspensionen nicht ohne weiteres zu vergleichen sind. Aus diesem Grunde wurden die infizierten Bakterien bis kurz vor dem Lysebeginn in der dichten Suspension bei der betreffenden Temperatur gelassen und dann erst entsprechend verdünnt.

Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß die Größe der Phagenproduktion innerhalb des geprüften Temperaturbereiches kaum verschieden ist. Dieser Befund stimmt auch mit den Ergebnissen der Untersuchungen von MAALØE (1950) an T4 überein.

δ) *rh<sup>-</sup>-Untersuchungen.* Neben den großen, klaren, typischen T2rh-Plaques traten auf den B<sub>2</sub>-Platten kleine trübe Plaques auf, deren Zahl von Platte zu Platte sehr stark schwankte, während die Schwankungen der großen Plaques sich in normalen Grenzen hielten. Bei Plattierungen auf B zeigten beide Plaque-typen die gleichen großen typischen r-Plaques. Auf einer Mischung von B und B/2 waren die einen groß und klar, die anderen, die auf B/2 kleine trübe Plaques gaben, groß und trübe. Sie entsprachen damit in ihrem Verhalten den von HER-SHEY bei T2H als h<sup>e</sup> und h<sup>t</sup> bezeichneten Phagen.

Auch der von HERSHEY bei den beiden Typen gefundene Unterschied in der Plattenwirksamkeit, d. h. dem Verhältnis der auf B/2 bzw. B auftretenden Plaquezahlen, wurde festgestellt, und zwar ist die Plattenwirksamkeit des h<sup>t</sup>-Typs wesentlich geringer als die des h<sup>e</sup>-Typs.

ε) *T7h<sup>+</sup>→T7h.* Um die an T2 gewonnenen Ergebnisse auch an einem anderen Phagenstamm, der nicht mit T2 verwandt ist, zu überprüfen, wurde die Mutation von T7h<sup>+</sup> zu T7h untersucht. Die Durchführung der Versuche war ähnlich wie bei den geschilderten T2r-Experimenten: In der logarithmischen Wachstumsperiode befindliche B-Bakterien wurden in Nährbrühe mit einer Infektionszahl von mindestens 5 infiziert; nach der Adsorptionszeit von 3 min blieb ein Teil bei 37°, der andere wurde auf tiefere Temperatur gekühlt (21–23°). Während der Latenzzeit und besonders oft kurz vor der Lyse wurde auf B/3, 4, 7-Bakterien plattiert, die gegen die zur Infektion benutzten T7-Phagen resistent sind.



Die Menge an T7h-Phagen in der Infektionssuspension war sehr gering, so daß die Zahl der auf B/3,4,7 gezählten Plaques praktisch der Zahl der Phagen entsprach, die durch *h*-Mutation während der Vermehrung der T7h<sup>+</sup>-Phagen in den B-Bakterien unter den betreffenden Temperaturverhältnissen entstanden.

Tabelle 3

4 cm<sup>3</sup> Bakteriensuspension + 0,25 cm<sup>3</sup> T7 (Lysat Nr. 59): Infektionszahl = 6,5. Nach 2½ min Adsorption bei 37°: je 1 cm<sup>3</sup> der infizierten Bakteriensuspension + je 9 cm<sup>3</sup> Nährbrühe von 21 bzw. 37°. Suspension bis Versuchsende bei 21 bzw. 37° gehalten.

Plattierung auf B/3, 4, 7		Infizierte Bakterien/cm <sup>3</sup>		Bakterientiter z. Z. der Infektion
21°	37°	21°	37°	
62 ± 6 (n = 18)	67 ± 6 (n = 15)	2,4 × 10 <sup>8</sup> (n = 6)	2,4 × 10 <sup>8</sup> (n = 3)	2,2 × 10 <sup>8</sup> /cm <sup>3</sup> (n = 6)

Zahl der bereits in der Infektionssuspension vorhandenen Mutanten: 0,6 je Platte.

Die Ergebnisse der vier durchgeführten Versuche, von denen einer in Tabelle 3 beschrieben ist, stimmten mit denen bei der Untersuchung des Mutationsschrittes T2r<sup>h</sup><sup>+</sup> zu T2r<sup>h</sup> gewonnenen überein. Bei verschiedener Temperatur wurde kein signifikanter Unterschied zwischen den Plaquezahlen der B/3,4,7-Platten gefunden.

### 3. Zusammenfassung der Ergebnisse der Temperaturexperimente

Die Versuche, die zur Feststellung der Frage, ob ein Einfluß der Temperatur auf die Höhe der Mutationsrate bei Phagenmutationen vorhanden ist, an T2, T2r und T7 angestellt wurden, ergaben übereinstimmend das gleiche Ergebnis: Es konnte bei den untersuchten Objekten kein gesicherter Unterschied zwischen der Höhe der Mutationsraten im Bereich von 20—37° festgestellt werden.

## III. Vergleich der *h*-Mutationsraten verschiedener T2r-Stämme

Die Experimente, welche die in der Einleitung erläuterte Frage nach der Beeinflussung der Mutationsrate des „*h*-Locus“ durch die Lage von *r* beantworten sollten, wurden nach folgendem Prinzip durchgeführt: In der logarithmischen Wachstumsperiode befindliche B-Bakterien wurden in getrennten Proben, jedoch unter sonst gleichen Bedingungen, mit solchen *r*-Stämmen infiziert, die sich in bezug auf den Kopplungsgrad zwischen *r*- und *h*-Locus deutlich unterscheiden<sup>1</sup>, und während der Latenzperiode auf B/2 plattiert. Eine genügend starke Beeinflussung der Mutationsrate von *h*<sup>+</sup> zu *h* müßte sich in einem Unterschied in der Zahl der neugebildeten *h*-Mutanten bei den verschiedenen *r*-Stämmen ausdrücken.

### 1. Schaffung der experimentellen Voraussetzungen

Bevor die Experimente zum Vergleich der Mutationsraten durchgeführt werden konnten, mußte eine Reihe von auftretenden Hindernissen beseitigt werden:

Die ersten Plattierungen der amerikanischen T2r-Stämme auf B zeigten eine bedeutend stärkere Schwankung der Plaquezahlen, als wenn der aus dem Labor von Dr. WEIDEL stammende T2r-Stamm auf B plattiert wurde. Es stellte sich auch heraus, daß nur ein Teil der *r*-Phagen auf den Platten einen Plaque gab. Durch erhöhte Zugabe von NaOH oder NaCl

<sup>1</sup> Das Ausgangsmaterial für diese Versuche stellte uns Herr Dr. HERSEY zur Verfügung.

ließ sich die Anzahl der Plaques, die von einer bestimmten Phagenmenge gegeben wurde, bis zu einem maximalen Wert steigern. Außerdem nahm dann die Streuung der Plaquezahlen normale Werte an.

Das Ausmaß der Plaquezahlsteigerung auf alkalischen gegenüber neutralen Platten hängt sowohl von der jeweiligen Phagen-Bakterien-Kombination als auch von dem verwendeten Nährmedium ab: Wurde „Difco bacto nutrient broth“ mit einem NaCl-Zusatz von 5 g/Liter als Nährmedium benutzt und ein bestimmtes Volumen einer verdünnten Phagensuspension auf Platten von verschiedenem  $p_H$  plattiert, so stieg die Plaquezahl mit steigendem  $p_H$  (in einem Bereich zwischen  $p_H$  6,6 bis zu  $p_H$  9,5 des Plattenagars) sehr stark an. Dies war bei Plattierung der amerikanischen T2r-Stämme auf B bzw. der T2rh-Mutanten auf B/2 der Fall sowie bei T2rht auf B/2. Im Gegensatz dazu blieb die Plaquezahl des aus dem Labor von Dr. WEIDEL stammenden T2r- bzw. T7-Stammes über den genannten  $p_H$ -Bereich konstant.

Wenn statt der freien Phagen — wie bisher erwähnt — mit den amerikanischen T2r-Stämmen infizierte B-Bakterien in hoher Konzentration auf B/2 plattiert wurden, so ergaben die Plaquezahlen bis etwa  $p_H$  9 keine Änderung; darüber hinaus ging die Zahl der Plaques zurück. — Diese Beobachtung, daß sich die Plaquezahlen bei Plattierung freier Phagen anders als bei der infizierter Bakterien in bezug auf ihre  $p_H$ -Abhängigkeit verhalten, wurde auch durch folgenden Befund bestätigt: Werden B-Bakterien mit T2r-Phagen infiziert und nach Entfernen der nicht adsorbierten Phagen durch Zentrifugation auf B plattiert, so nimmt die Plaquezahl mit steigendem  $p_H$  (in dem oben angegebenen Bereich) allmählich ab.

Es wurde bereits erwähnt, daß u. U. auch die Art des Kulturmediums bei der  $p_H$ -Abhängigkeit der Plaquezahlen eine Rolle spielt. Dies ist jedoch nicht in allen untersuchten Fällen festzustellen: Werden die amerikanischen T2r-Stämme auf B plattiert und dabei statt „Difco bacto nutrient broth“, auf dem sie eine starke  $p_H$ -Abhängigkeit zeigen, als Nährmedium „Merck Standard I“ benutzt, so tritt keine  $p_H$ -Abhängigkeit auf. Dagegen ist bei Bestimmung der h-Mutantenhäufigkeit, d. h. bei unverdünnter Plattierung einer T2r-Suspension auf B/2, kein Unterschied zwischen den beiden Kulturmedien zu beobachten. Auch auf „Merck Standard I“ tritt ebenso wie auf „Difco bacto nutrient broth“ eine Steigerung der Plaquezahlen mit steigendem  $p_H$  auf.

Die Abhängigkeit der Plaquezahlen von der Reaktion des Kulturmediums legte die Vermutung nahe, daß das Ansteigen der Plaquezahlen durch eine bessere Adsorption bei höherem  $p_H$  bedingt ist. Um dies zu prüfen, wurde die Zahl der bei bestimmten  $p_H$ -Werten nach Adsorption an B im Überstand befindlichen Phagen festgestellt. Dabei ergab sich mit steigendem  $p_H$ -Wert der Brühe eine zunehmende Verminderung der im Überstand verbleibenden Phagenzahl, was auf eine bessere Adsorption hinweist. (Allerdings bleibt dabei zu beachten, daß durch Verschleimung und Verklebung miteinander eventuell die Phagen beim Zentrifugieren von den Bakterien mitgerissen werden können.) Daß die niedrige Zahl von Phagen im Überstand nicht darauf zurückzuführen ist, daß sie durch die alkalische Reaktion inaktiviert werden, geht aus den Kontrollen hervor, die gleichfalls auf  $p_H$  9 gebracht und den gleichen Bedingungen mit Ausnahme des Bakterienzusatzes ausgesetzt wurden.

Für die höheren Plaquezahlen auf Platten mit alkalischem gegenüber neutralem  $p_H$  ist nicht das alkalische  $p_H$  die entscheidende Ursache. Dies geht aus folgendem Versuch hervor: Wird das  $p_H$  des alkalischen Agars durch Zusatz von HCl wieder auf  $p_H$  7 gebracht, so ergibt sich auf diesen reneutralisierten die gleiche Plaquezahl wie auf den alkalischen Platten.

Eine Steigerung der Plaquezahlen auf Platten von neutralem  $p_H$  läßt sich durch erhöhten Zusatz von NaCl erreichen. Um die maximale Plaquezahl zu erhalten, ist dabei je Liter Nährmedium mehr NaCl notwendig, als der Menge an NaCl entspricht, die durch den Zusatz von NaOH und der (nach dem Autoklavieren zum Reneutralisieren) hinzugefügten Salzsäure gebildet wird. Das Auftreten der maximalen Plaquezahl auf reneutralisierten Platten ist also nicht ausschließlich durch die infolge der NaOH- und HCl-Zugabe gebildete höhere NaCl-Menge bedingt.

Die Verbesserung der Adsorption und im Zusammenhang damit der Anstieg der Plaquezahlen auf den Platten läßt sich also auf verschiedene Weise erreichen: 1. durch Zusatz von NaOH zu der Agar-Nährbrühe-Suspension bis zu  $p_H$  9–10; ebenfalls nach anschließender Reneutralisierung der letzteren, und 2. durch Zusatz einer erhöhten NaCl-Menge (> 10 g NaCl/Liter) bei neutralem  $p_H$ . Daraus läßt sich schließen, daß durch den Zusatz einer bestimmten NaCl-Menge bzw. durch das Autoklavieren bei hohem  $p_H$  ein Stoff oder Zustand beseitigt wird, der eine normale Adsorption verhindert.

In weiteren Experimenten wurde geprüft, ob die Zunahme der Plaquezahlen auf alkalischen gegenüber neutralen Platten durch eine Heterogenität der Phagenpopulation zustande kommt. Unter der Annahme, daß die Phagenpopulation in bezug auf die Adsorptionsfähigkeit heterogen zusammengesetzt ist, und zwar so, daß ein kleiner Teil der Phagenpopulation sowohl bei neutraler als auch alkalischer Reaktion, die Mehrzahl jedoch nur bei alkalischem  $pH$  absorbiert wird, müssen folgende Verhältnisse gegeben sein: Phagen, die aus einem Plaque von einer neutralen Platte stammen, ergeben bei Plattierung auf alkalischen und neutralen Platten die gleiche Plaquezahl. Dies wäre bei Abimpfungen von alkalischen Platten nur bei einem kleinen Teil der Plaques der Fall; die überwiegende Zahl der Plaques müßte dagegen Phagen liefern, die nur auf den alkalischen, jedoch nicht auf den neutralen Platten Plaques ergeben. — Das Experiment zeigt, daß dies nicht verwirklicht ist: Man erhält immer wieder die gleiche Abhängigkeit, ganz gleich, welcher Platte die Phagen entstammen, woraus zu schließen ist, daß die Phagenpopulation in bezug auf die Adsorptionsfähigkeit einheitlich ist.

Angesichts des Befundes, daß die amerikanischen T2r-Stämme bei Plattierung auf dem B- bzw. B/2-Stamm eine starke Abhängigkeit von der zugesetzten NaOH-Menge zeigen, während das bei dem T2r-Stamm aus dem Labor von Dr. WEIDEL nicht der Fall ist, lagen folgende Annahmen nahe: 1. Es ist eine Selektion der T2r-Phagen (aus dem Labor von Dr. WEIDEL) dahingehend erfolgt, daß sie alle auch bei geringer NaOH-Zugabe an den B-Stamm adsorbiert werden. 2. Die Verhältnisse bei den amerikanischen Bakterien- und Phagenstämmen liegen entsprechend, so daß die amerikanischen Phagen auch bei geringerer NaOH-Menge an die amerikanischen Bakterien adsorbiert werden. Zur Prüfung dieser Vermutung ließ ich mir die amerikanischen Bakterienstämmen (H, S und B/2H) kommen; der experimentelle Befund zeigt, daß die 2. Annahme nicht der Wirklichkeit entspricht: Die Abhängigkeit bleibt bei Plattierung auf den amerikanischen Bakterienstämmen bestehen, auch dann, wenn die amerikanischen Phagen nicht auf B, sondern den amerikanischen Bakterien angereichert werden.

Auf alkalischen Platten stimmen bei Plattierung aus der gleichen Phagensuspension die Plaquezahlen auf dem B-Stamm mit denen auf dem amerikanischen H-Stamm überein, während sie auf dem amerikanischen S-Stamm etwas niedriger sind. Sehr stark unterscheidet sich B/2 von dem amerikanischen B/2H; die Bestimmungen der *h*-Mutantenhäufigkeit auf dem letzteren ergeben bei Plattierung aus der gleichen Phagensuspension bedeutend höhere Plaquezahlen als auf B/2.

Bei den Experimenten zum Vergleich der Mutationsraten verschiedener T2r-Stämme, bei denen im Prinzip mit T2r infizierte B-Bakterien vor der Lyse auf B/2 gebracht werden, wird vorausgesetzt, daß die Plaques auf den B/2-Platten (außer von den bei der Infektion bereits vorhandenen *h*-Phagen) durch Mutanten gestartet werden, die in den infizierten Bakterien neu entstehen. Bei Veränderung der Zahl der infizierten Bakterien um einen bestimmten Betrag muß sich demnach auch die Zahl der neuentstandenen Mutanten entsprechend ändern. Diese Voraussetzung wurde experimentell bestätigt.

Bei gleicher Bakterien- und wechselnder Phagenmenge muß — vorausgesetzt, daß die Infektionszahl in jedem Fall so hoch gewählt wird, daß alle Bakterien sicher infiziert sind — die Differenz zwischen Gesamtplaquezahlen auf B/2 minus bereits bei der Infektion vorhandenen *h*-Phagen in allen Fällen gleich sein. Bei der experimentellen Prüfung waren die beiden Differenzen (bei hoher bzw. niedriger Infektionszahl) nicht gleich, sondern die Differenz bei hoher war etwas geringer als die bei niedriger Infektionszahl. Dies läßt sich wohl darauf zurückführen, daß ein Teil der *h*-Phagen, die in der Infektionssuspension vorhanden sind, infolge der größeren *h*<sup>+</sup>-Anzahl keine Möglichkeit hat, Nachkommen zu geben, da nach Untersuchungen von DULBECCO (1949) nur eine beschränkte Anzahl von adsorbierten Phagen an der Vermehrung teilnehmen kann.

Für die Durchführung der Mutationsexperimente erwies es sich als wichtige Voraussetzung, die optimale NaCl-Konzentration für die jeweilige Phagen-Bakterienkombination zu bestimmen, da sonst Plaquezahl als auch -ausbildung starke Schwankungen ergaben. Durch Veränderung der NaCl-Konzentration der Agar-Nährmedium-Suspension ließ sich diese starke Variabilität auf ein normales Maß bringen. Systematische Untersuchungen ergaben als optimale Konzentration 9 g NaCl/Liter Nährmedium für die Manifestation der Mutanten auf B/2, während für die Plattierung der T2r-Stämme auf B ein Zusatz von 14 g NaCl/Liter am besten war. — Wurden jedoch T2r-infizierte B-Bakterien auf B/2-Platten mit 14 g NaCl/Liter Nährmedium plattiert, so zeigte die Plaquezahl eine starke Abhängigkeit von



sekundären äußeren Einflüssen, wie z. B. geringer Altersunterschied der Platten, was bei optimaler NaCl-Konzentration (9 g) nicht der Fall war. Die Abhängigkeit der Plaquezahlen auf B bzw. B/2 von der NaCl-Konzentration in einem Bereich bis zu 30 g/Liter ist folgende: Sowohl auf B als auch B/2 steigen die Plaquezahlen mit zunehmender NaCl-Konzentration an. Während sie jedoch auf B bis zu der höchsten geprüften Kochsalzkonzentration von 30 g/Liter konstant bleiben, fallen sie auf B/2 wieder auf ganz geringere Werte ab. Die gleichen Verhältnisse ergeben sich auf „Difco bacto tryptone“ statt auf „Difco nutrient broth“. — Die Empfindlichkeit der verschiedenen Coli-Stämme gegen die NaCl-Konzentration ist ebenfalls unterschiedlich: Während der H-Stamm konstante Koloniezahlen auf Platten mit NaCl-Konzentrationen zwischen 0 und 14 g/Liter ergab, nahm deren Zahl beim B-Stamm oberhalb von 5 g/Liter allmählich ab; dennoch tritt auf Platten, auf denen infolge des hohen Kochsalzgehaltes nur ein Teil der B-Bakterien zu sichtbaren Kolonien heranwachsen kann, die maximale Zahl an T2r-Plaques bei einem Rasen von B-Bakterien auf.

Um bei der Infektion eine gute Adsorption der T2r-Phagen an die Bakterien zu erreichen, mußte die optimale Kochsalzmenge für den Zusatz zur Nährbrühe festgestellt werden. Während bei Zusatz von 5 g NaCl/Liter Nährbrühe die Adsorption des T2r-Stammes aus dem Labor von Dr. WEIDEL an B normale Werte (bei einem Bakterientiter von etwa  $2 \cdot 10^8$ , einer Infektionszahl von 5 und einer Zeit von 5 min bei 37°: etwa 10% der Phagen im Überstand) ergab, war sie bei den amerikanischen T2r-Stämmen unter den gleichen Bedingungen sehr schlecht; es blieben etwa 50—70% der Phagen im Überstand. Die ursprüngliche Hoffnung, durch einen Wechsel der Nährbrühe eine bessere Adsorption zu erreichen, erfüllte sich nicht: Weder in „Difco bacto tryptone“ noch in „Merek Standard I“ war die Zahl der Phagen im Überstand gegenüber „Difco bacto nutrient broth“ verringert. Dagegen ließ sich die Adsorption durch Zusatz von NaCl zu der Bakteriensuspension wenige Minuten vor der Infektion wesentlich verbessern. Die zugesetzte NaCl-Menge wurde so berechnet, daß sie einer Endkonzentration von 14 g NaCl/Liter Nährlösung entsprach. Wenn diese 14 g/l Liter jedoch nicht kurz vor der Infektion hinzugegeben wurden, sondern bereits von Anfang an in der Nährbrühe („Difco bacto nutrient broth“) vorhanden waren, so war die Adsorption der Phagen an die in dieser Brühe gewachsenen Bakterien schlecht. Das gleiche war der Fall, wenn die Nährbrühe nicht 14 g, sondern nur 10 g NaCl/Liter von Anfang an enthielt. Zwischen der Adsorption der Phagen an den B- oder H-Stamm war in all den erwähnten Fällen kein Unterschied festzustellen.

Die letzte Voraussetzung, die zur Durchführung der Mutationsexperimente geschaffen werden mußte, war die Herabsetzung der Zahl an *h*-Phagen in den T2r-Lysaten. Bei der Anreicherung der T2r-Phagen entstehen spontan auch T2r*h*-Mutanten, die nachher in allen zur Infektion benutzten Suspensionen enthalten sind. Bei der Berechnung der Zahl der Neumutanten in den Versuchen zum Vergleich der Mutationsraten muß daher immer die Zahl der *h*-Phagen bestimmt und berücksichtigt werden, die bereits in der Infektionssuspension vorhanden sind, und zwar ist unter sonst gleichen Bedingungen die Versuchsgenauigkeit um so kleiner, je größer die Anzahl der bei der Infektion vorhandenen *h*-Mutanten ist. Man muß daher bestrebt sein, ihre Zahl so klein wie möglich zu halten. — Die Herabsetzung der Zahl an *h*-Phagen in den Infektionssuspensionen gelang am besten durch Adsorption der T2r*h*-Phagen an hitzegetötete B/2H-Bakterien. Zu diesem Zweck wurden die in der logarithmischen Wachstumsperiode befindlichen Bakterien 10 min bei 65° erhitzt, wobei der größte Teil der Bakterien abgetötet wurde. Nach Zentrifugation der Bakterien erfolgte ihre Resuspension in dem betreffenden Phagenlysat. Es wurde 1 Std bei 37° adsorbiert und anschließend zentrifugiert. Dadurch gelang es, einen beträchtlichen Teil der während der Anreicherung entstandenen T2r*h* herauszuadsorbieren.

## 2. Durchführung der Mutationsexperimente

Nachdem durch die geschilderten Versuche die Voraussetzungen dafür geschaffen worden waren, konnte mit der Durchführung der eigentlichen Experimente zum Vergleich der Mutationsraten verschiedener T2r-Stämme begonnen werden. Sie wurden nach folgendem Prinzip durchgeführt: B-Bakterien mit einem Titer von ungefähr  $4 \cdot 10^8$  wurden 3 min vor der Infektion mit NaCl versetzt und mit einer theoretischen Infektionszahl von 6—7 infiziert. Nach 6 bis

8 min wurde ein Teil der infizierten Bakteriensuspension in Eiswasser gekühlt, zentrifugiert, das Sediment mit eiskalter Nährbrühe gewaschen und die Zahl der infizierten Bakterien sowie die Menge der im Überstand befindlichen nicht-adsorbierten Phagen für jede einzelne Infektionsmischung bestimmt. Zwischen der 8. und der 20. min nach der Infektion wurden je  $0,5 \text{ cm}^3$  auf B/2 plattiert und — sobald der top layer fest geworden war (nach etwa 10 min) — die Platten in den Brutschrank gebracht.

Nach den zuerst erhaltenen Ergebnissen zeigten die untersuchten *r*-Stämme unterschiedliche Mutationsraten. Die Beweiskraft dieser Unterschiede wurde jedoch hinfällig, als es sich herausstellte, daß die Lysate eines einzelnen *r*-Stammes nicht die zu erwartende gleiche, sondern eine unterschiedliche Mutationsrate ergaben. Die Differenzen in den Mutationsraten der Lysate eines einzelnen *r*-Stammes waren so groß wie die zwischen den *r*-Stämmen aufgetretenen, und sie ließen sich nicht durch eine unterschiedliche Zahl an *h*-Phagen in den betreffenden Lysaten erklären. — Da es sich im weiteren Verlauf der Untersuchungen zeigen ließ, daß Lysate eines Stammes, die unter Einhaltung möglichst konstanter Bedingungen angereichert wurden, auch die gleiche Mutationsrate aufweisen, läßt sich die Differenz in den Mutationsraten der Lysate eines Stammes darauf zurückführen, daß die Lysate unter verschiedenen Anreicherungsbedingungen (ungleicher Bakterientiter zur Zeit der Infektion, verschiedene Infektionszahl u. a.) und nicht zur gleichen Zeit gewonnen wurden. Inwiefern sich dies in der Höhe der Mutationsrate der Phagen des betreffenden Lysats auswirkt, ist jedoch unklar.

Die Vermutung, daß sich im Lysat eventuell ein mutationsbeeinflussender Faktor befindet, der unter ungleichen Anreicherungsbedingungen in verschieden starkem Ausmaß entsteht, und der sich durch Zentrifugation von den Phagen abtrennen läßt, wurde auf folgende Weise geprüft: Von zwei eine verschiedene Mutationsrate aufweisenden Lysaten eines *r*-Stammes wurden jeweils die eine Lysathälfte hochohrtig zentrifugiert und die Phagen in frischer Nährlösung resuspendiert, die andere Hälfte blieb nichtzentrifugiert. Von allen 4 Proben wurde dann die Mutationsrate bestimmt; sie war bei den beiden (zentrifugierten bzw. nichtzentrifugierten) Hälften eines Lysats gleich, während die beiden Lysate, die sich ja bereits vor der Zentrifugierung in bezug auf die Mutationsrate unterschieden, wieder unterschiedliche Mutationsraten aufwiesen. Dies spricht gegen das Vorhandensein eines abtrennbaren mutationsbeeinflussenden Faktors im Lysat; denn sonst müßten die Mutationsraten der zentrifugierten Hälften der beiden Lysate gleich sein, weil der Faktor durch die Zentrifugierung von den Phagen getrennt und mit dem Überstand entfernt worden wäre.

Um die Unterschiede zwischen den Lysaten eines *r*-Stammes auszuschalten, wurden diese unter möglichst gleichen Bedingungen nebeneinander gewonnen: 5 Erlenmeyer mit je  $150 \text{ cm}^3$  „Difco bacto nutrient broth“ wurden zur gleichen Zeit mit der gleichen Menge an B-Bakterien angeimpft und bei  $37^\circ$  belüftet. Nach Erreichen eines Titors von  $4 \cdot 10^8$  wurden sämtliche Kolben mit der gleichen Phagenmenge infiziert und nach Eintritt der Lyse (nach etwa 2 Std) bis zum nächsten Tag bei  $1^\circ \text{ C}$  stehengelassen. Es folgte zunächst niedertourige und dann hochohrtige Zentrifugation in der Spinco-Zentrifuge mit allen Lysaten gleichzeitig. Die Phagensedimente wurden mit der gleichen Menge an „Difco bacto

nutrient broth“ aufgenommen und bis zum nächsten Tag bei 1° C gehalten, um eine allmähliche Resuspension des Sedimentes zu erreichen. Die zusammengeklumpten Bakterientrümmen wurden nun wieder niedertourig abzentrifugiert und die Überstände zur Infektion benutzt. Titrationsbilanzen gaben über den erfolgten Phagenverlust Aufschluß. Nach dieser Methode erfolgte die Gewinnung von je 5 Lysaten von *r1*, *r4*, *r13* und *r14*. Um die Menge an *h*-Phagen herabzusetzen, wurde mit allen Lysaten unter gleichen Bedingungen eine Präadsorption an hitzegetöteten B/2-Bakterien durchgeführt.

Die jeweils 5 Lysate von jedem der angereicherten T2r-Stämme wurden zunächst miteinander im Mutationsexperiment verglichen. Dann erfolgte der Vergleich je zweier Lysate von zunächst drei und schließlich aller vier angereicherter Stämme (Tabelle 4). In keinem Fall wurde ein gesicherter Unterschied für die Werte der Mutationsraten gefunden.

Bei den bisher beschriebenen Experimenten zum Vergleich der Mutationsraten verschiedener T2r-Stämme wurden die infizierten B-Bakterien auf B/2 plattiert. Die zuletzt genannten Versuche zeigen, daß alle untersuchten T2r-Stämme ungefähr die gleiche Mutationsrate zu *h* haben.

Außerdem wurden die Experimente so durchgeführt, daß die infizierten Bakterien statt auf B/2 auf dem amerikanischen B/2H-Stamm plattiert wurden. Eine in der logarithmischen Wachstumsperiode befindliche Suspension von B-Bakterien wurde auf mehrere Gläschen aufgeteilt, und jedes Gläschen erhielt je einen der zu untersuchenden T2r-Phagenstämme. Die Phagenmenge war so berechnet, daß auf ein Bakterium durchschnittlich 5 Phagen kamen. Während der Latenzperiode wurden die infizierten Bakterien auf B/2H plattiert.

Die Zahl der auf B/2H-Platten erhaltenen Plaques war in den ersten Experimenten kleiner, als man nach der Zahl der in der Infektionssuspension vorhandenen

Tabelle 4. Vergleich je zweier Lysate von *r1*, *r4*, *r13* und *r14*

	<i>r1</i>	<i>r4</i>	<i>r13</i>	<i>r14</i>	<i>r1</i>	<i>r4</i>	<i>r13</i>	<i>r14</i>
1*	501a	504b	613b	714a	501c	504c	613c	714d
2	$1,4 \times 10^{11}$	$8,8 \times 10^{10}$	$6,2 \times 10^{10}$	$5,4 \times 10^{10}$	$1,6 \times 10^{11}$	$6,9 \times 10^{10}$	$6,4 \times 10^{10}$	$5,8 \times 10^{10}$
3	0,71 (1:10)	0,114	0,16	0,184	0,63 (1:10)	0,145	0,155	0,17
4	—	0,60	0,55	0,53	0,07	0,56	0,56	0,54
5	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0	4,0
6	$34,2 \pm 6$ ( <i>n</i> = 6)	$35,3 \pm 5$ ( <i>n</i> = 6)	$36,8 \pm 6$ ( <i>n</i> = 6)	$29,4 \pm 6$ ( <i>n</i> = 6)	$31,7 \pm 5$ ( <i>n</i> = 6)	$32,5 \pm 4$ ( <i>n</i> = 6)	$34,0 \pm 6$ ( <i>n</i> = 6)	$30,8 \pm 4$ ( <i>n</i> = 6)
7	3	6	2	4	5	4	3	6
8	$3,6 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,9 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,7 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,9 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,6 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,9 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,7 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)	$3,7 \times 10^8$ ( <i>n</i> = 4)

Bakterientiter z. Z. der Infektion:  $4,3 \times 10^8/\text{cm}^3$  (*n* = 6). Infektionszahl: theoretisch: 5,8, wirklich: 4,9—5,2.

\* Die Bedeutung der Ziffern 1—8 ist folgende: 1. Nummer des Lysats, 2. Phagentiter des Lysats, 3. zur Infektion benutzte Phagenmenge (in Kubikzentimetern), 4. Menge an Nährmedium als Volumenausgleich (in Kubikzentimetern), 5. zur Infektion benutzte Bakterienmenge (in Kubikzentimetern), 6. durchschnittliche Plaquezahl je B/2-Platte, 7. bereits in der Infektionssuspension vorhandene Mutanten je Platte, 8. Zahl der infizierten Bakterien je Kubikzentimeter.



*h*-Phagen erwarten sollte. Diese Differenz wird auf den von GRAHAM (1953) beschriebenen Effekt zurückgeführt, wonach in nährstoffhaltigem Medium kurze Zeit nach der Erstinfektion eines Bakteriums die später adsorbierten Phagen von der Vermehrung ausgeschlossen werden, wobei deren Nukleinsäure abgebaut wird. Diese Schwierigkeit ließ sich am besten in der Weise umgehen, daß die Infektion der Bakterien in einem Medium erfolgte, das keine Nährstoffe enthielt, da der Graham-Effekt nur in nährstoffhaltigen Medien eintritt. Außerdem mußte dafür gesorgt werden, daß die zur Infektion benutzten Phagen sich in nährstofffreiem Medium befanden. Zu diesem Zweck wurden die Phagen in sämtlichen zur Infektion benutzten Lysaten hochtourig abzentrifugiert und in Gelatine-Salz-Puffer aufgenommen. Die Bakterien wurden vor der Infektion ein- bis zweimal in Puffer gewaschen und die Bakteriensuspension in mehrere kleinere Volumina aufgeteilt. Jede Probe wurde mit einem anderen *r*-Stamm infiziert; nach der Adsorptionszeit erfolgte die Plattierung auf B/2H. Die Ergebnisse zeigten, daß nun, wie erwartet, die erhaltenen Plaquezahlen größer waren als die Zahl der *h*-Mutanten, die als sog. *h*-input (d. h. während der Anreicherung in dem *r*-Lysat entstandene *h*-Mutanten) auf die Platte kamen.

Die Plaquetypen waren jedoch nicht einheitlich, sondern es ließen sich mehrere Typen unterscheiden, die sich durch ihre Größe sowie dadurch unterschieden, daß klare bzw. trübe Plaques auftraten. Die Untersuchung dieser Plaquetypen bei 8—10maliger Weiterverimpfung ergab folgende Resultate: 1. Große, klare Plaques, die auch bei 8maliger Verimpfung den gleichen Typ behielten, 2. kleine bis mittlere Plaques, deren Größe und Trübung etwas wechselte, die jedoch immer wesentlich kleiner als die unter 1. genannten Plaques waren, und 3. große, trübe Plaques, von denen eine Anzahl eine kleine, runde, zentrisch oder exzentrisch im Plaque gelegene, klare Zone aufwiesen. Abimpfungen aus dieser Zone ergaben überwiegend die unter 1. genannten Plaques, die auch bei weiterer Verimpfung die Ausprägung beibehielten. Impfte man aus dem Plaqueteil ab, der diese Zone nicht enthielt, so traten a) große, homogen trübe und b) große, trübe Plaques mit dieser Zone auf. Bei den Plattierungen auf B/2H lag die Streuung der unter 1. genannten Plaques innerhalb der normalen Fehlerbreite, während sie bei den anderen beiden Typen anomal groß war.

Aus diesen Gründen mußte auf eine Verwendung des amerikanischen B/2H-Stammes verzichtet werden; statt dessen wurde der B/2-Stamm aus dem Labor von Dr. WEIDEL benutzt. Die Experimente, die mit diesem Stamm ausgeführt wurden, ergaben — wie bereits geschildert — für die *h*-Mutation verschiedener T2*r*-Stämme die gleiche Mutationsrate.

Die zuerst beobachteten Differenzen in der Höhe der Mutationsrate verschiedener T2*r*-Stämme erwiesen sich als solche, die bereits zwischen den Lysaten eines einzigen *r*-Stammes auftreten, wenn die Lysate nicht unter gleichen Bedingungen angereichert werden. Welcher Faktor dafür verantwortlich ist, wurde nicht weiter untersucht. Jedenfalls läßt er sich nicht durch Zentrifugieren von den Phagen abtrennen.

### Diskussion

Die ältere Literatur zur Frage des Temperaturquotienten der spontanen Mutationsrate ist z. B. bei TIMOFÉEFF (1937) und STUBBE (1938) zusammengestellt. Dort finden wir die häufig zitierte Arbeit von TIMOFÉEFF (1935), die für die mit

der *CLB*-Methode nachgewiesenen Letalmutationen bei *Drosophila* im Bereich von 14—29° C einen für die ebenfalls von der Temperatur abhängige Entwicklungsgeschwindigkeit korrigierten  $Q_{10} = 5,1$  ergab. Die anderen z. T. noch älteren in diesen Zusammenfassungen zitierten Arbeiten geben teils positive Temperaturabhängigkeit der Mutationsrate, teils Optimumkurven an, teils kann überhaupt kein Temperatureffekt nachgewiesen werden (so z. B. DEMEREC 1932 für somatische Mutation bei *Drosophila* zwischen 20 und 30° C). Aus neuerer Zeit sind vor allem 2 Mitteilungen aus dem gleichen Institut am gleichen Objekt für zwei verschiedene Mutationsschritte mit verschiedenem Ergebnis von Interesse: GALINSKY (1952) fand bei *Escherichia coli* Stamm B, daß die Zahl der spontan auftretenden Mutanten, die gegen den Phagen T3 resistent sind, bei 15° C nur 30% der bei 37° C gefundenen beträgt, was einem  $Q_{10} \sim 1,75$  entspricht. WITKIN und FETHERSTON (1951) fanden zwischen 16 und 37° C keinen Einfluß der Temperatur auf die Mutationsrate je Bakterium und Generation zu Resistenz gegen den Phagen T1. Selbst wenn man von der älteren Literatur mit ihren zahlreichen Widersprüchen, die man in einem oder anderen Falle vielleicht auf experimentelle Unzulänglichkeiten zurückführen kann, absieht, ergibt sich also für Organismen kein einheitliches Bild. Wie eingangs erwähnt, ist für phytopathogene Viren noch kein eindeutiger Experimentalbefund vorhanden, weil bisher nicht klar zwischen Einfluß der Temperatur auf die Mutationsrate oder Veränderung der Selektionsbedingungen für schon vorhandene Mutanten entschieden werden konnte. Daß in manchen Fällen auch innerhalb eines vielzelligen Organismus mit ähnlichen Deutungsschwierigkeiten gerechnet werden muß, ist zum mindesten nicht mit Sicherheit abzulehnen.

In dem hier vorgelegten Material konnte Selektion experimentell wirklich ausgeschlossen werden. Denn da infizierte Bakterien vor der Lyse plattiert wurden, ist es für die Plaque-Bildung gleichgültig, wie viele Abkömmlinge der neu entstandenen Mutante beim Platzen des Bakteriums auf der Platte in diesem Bakterium enthalten waren. Soweit wie irgend möglich, wurde, wie im experimentellen Teil im Detail dargestellt ist, das Vorhandensein störender Faktoren nicht nur diskutiert, sondern geprüft und in neuen Versuchsansätzen ausgeschaltet. Dazu gehört vor allem auch die Frage, ob eine durch die Temperatur erhöhte Mutationsrate etwa durch verringerte Phagenproduktion kompensiert wird. Dieser Einwand konnte ausgeschlossen werden (s. S. 135).

Es wurden stets nur Plaques eines Typs verglichen, und zwar nur die großen, typischen  $rh^c$ -Plaques. Daß daneben noch andere Phagen auftreten, geht aus dem Vorhandensein der untersuchten  $rh^t$ -Phagen sowie aus folgendem, auf S. 138 erwähntem Befund hervor: Wenn man zur Bestimmung der Zahl der in einem  $rh^+$ -Lysat befindlichen  $rh$ -Phagen auf B/2 bzw. B/2H plattiert, so ist unter sonst gleichen Bedingungen auf B/2H die Summe aller Plaques, von denen, wie im experimentellen Teil erwähnt, mehrere Typen auftreten, wesentlich höher als auf B/2.

Die Mutation  $h^+ \rightarrow h$  ist im Bereich physiologischer Temperaturen also bei den beiden Phagen T2 und T7 weitgehend von der Temperatur unabhängig. Mit Sicherheit kann ein Temperaturkoeffizient von der Größenordnung 2—5 ausgeschlossen werden. Damit ist an diesem im Vergleich zu Organismen wie *Drosophila* recht übersichtlichen System gezeigt, daß Verallgemeinerungen jener an sich mit Recht berühmten Befunde unzulässig sind.

Aus der Genetik der Organismen mit wohlausgebildeten Chromosomen sind etliche sog. Positioneffekte bekannt. Als im Verlauf dieser Untersuchung der Verdacht auftauchte, daß die Mutabilität des „*h*-Locus“ durch die „Lage“ des zu *r* mutierten *r*<sup>+</sup>-Locus beeinflußt sei, war die sorgfältige Untersuchung dieses Problems im Hinblick auf die sicherlich sehr viel einfachere Beschaffenheit des „Phagenchromosoms“ von erheblichem Interesse. Nach Überwindung experimenteller Hindernisse konnte dann aber eindeutig gezeigt werden, daß die Mutabilität des „*h*-Locus“ nicht davon beeinflußt wird, ob *r* nahe oder entfernt von *h* lokalisiert ist. Alle hier für die Untersuchung herangezogenen *r*-Stämme hatten praktisch die gleiche Mutationsrate für *h*<sup>+</sup>→*h*.

### Summary

The relation between mutation rate and the environmental temperature was studied for the *h* (host range) locus of the bacteriophages T2r and T7. No significant difference in mutation rate occurred between 19° C and 36° C.

During these experiments there appeared some indication that the mutation rate (*h*<sup>+</sup>→*h*) of several T2r-strains was influenced by the relative position of the *r* and the *h*-locus. After solution of several technical difficulties encountered in testing this assumption, it was found that the mutation rate of *h*<sup>+</sup> to *h* is independent of the known genetic constitution.

Für die Anregung zu dieser Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. MELCHERS und für die Anleitung zum Arbeiten mit Bakteriophagen sowie für die ständige kritische Diskussion der Methoden Herrn Dozenten Dr. Dr. WEIDEL. Ferner danke ich Herrn Dr. HERSHEY, Cold Spring Harbor, für die Übersendung der genannten Bakterien- und Phagenstämme.

### Literatur

- DEMEREK, M.: Effect of temperature on the rate of change of the miniature-3-gamma gene of *Drosophila virilis*. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **18**, 430—434 (1932). — DOERMAN, A. H.: The negative state in the life cycle of bacteriophage. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **18**, 3—11 (1953). — DULBECCO, R.: The number of bacteriophage T2 that can participate in intracellular growth. Genetics **34**, 126—132 (1949). — GALINSKY, I.: Bacterial genetics. Carnegie Inst. Wash. Year Book **52**, 217 (1952). — GRAHAM, A. F.: Fate of infecting phage particle. Ann. Inst. Pasteur **84**, 90 (1953). — HERSHEY, A. D., and R. ROTMAN: Genetic recombination between host-range and plaque-type mutants of bacteriophage in single bacterial cells. Genetics **34**, 44—71 (1949). — MAALØE, O.: Some effects of changes of temperature on intracellular growth of bacteria virus T4r. Acta path. scand. (Københ.) **27**, 680 bis 694 (1950). — MUNDY, K. W.: Die Abhängigkeit der Mutabilität des TMV von Außenfaktoren. Diss. Tübingen 1954. — STUBBE, H.: Genmutation. Handbuch der Vererbungswissenschaft, IIF, S. 331—341. 1938. — TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N.: Über die Wirkung von Temperatur auf den Mutationsprozeß bei *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbblhre **70**, 125—129 (1935). — Experimentelle Mutationsforschung in der Vererbungslehre. Leipzig: Theodor Steinkopff 1937. — TIMOFÉEFF-RESSOVSKY, N., K. G. ZIMMER u. M. DELBRÜCK: Über die Natur der Genmutation und der Genstruktur. Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, Math.-physik. Kl. **1**, Nr 13 (1935). — WITKIN, E. M., and J. H. FETHERSTON: Bacterial genetics. Carnegie Inst. Wash. Year Book **51**, 201 (1951).

Dipl. agr. H. G. WITTMANN, z. Zt. Dept. of Plant Pathology,  
University of California, Berkeley, Cal. USA.



Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

# ENTWICKLUNGSGESCHICHTLICHE UNTERSUCHUNGEN VERSCHIEDENER BLATTFORMMUTANTEN DER SIPPE 50 VON *ANTIRRHINUM MAJUS* L.\*

Von

RAINER BERGFELD

Mit 14 Textabbildungen

(Eingegangen am 26. Januar 1957)

## A. Einleitung

Im Anschluß an die Untersuchungen einiger Blütenformmutanten von *Antirrhinum majus* (BERGFELD 1956) wurden in der vorliegenden Arbeit Blattformmutanten der gleichen Species nun ebenfalls entwicklungsgeschichtlich bearbeitet. Unifaktoriell spaltende Blattformmutanten wurden bisher, von wenigen Ausnahmen abgesehen, bezüglich ihrer Entwicklung kaum beachtet (HAMMOND 1941, WHALLEY und WHALLEY 1942, LÜCK 1956). Und doch lassen gerade diese, durch einen Vergleich mit der Normalform, das Eingreifen eines bestimmten mutierten Gens in den Entstehungsvorgang gut festlegen, so daß man auf diese Art einen Einblick zumindest in die zeitliche Abfolge der Wirkungsweise einzelner Gene erhalten kann. Darüber hinaus gestattet die Mutante *cupuliformis* auch Vergleiche mit ähnlichen Formen, nämlich mit den von ROTH (1952), TROLL und MEYER (1955) untersuchten Schildblättern.

## B. Material und Methode

Die bearbeiteten Mutanten entstammen alle der  $F_2$  eines Mutationsversuches mit Chemikalien (vgl. OEHLKERS 1956). Die Untersuchungen wurden teils an frischem, teils an fixiertem Material vorgenommen, wobei als Fixierungsmittel 70%iger Alkohol diente, dem einige Tropfen Formol und Eisessig zugesetzt wurden. Mikrotomschnitte wurden mit Hämatoxylin nach Delafield oder Safranin gefärbt. Die Zeichnungen werden mit Hilfe eines Abbeschen Zeichenapparates der Firma C. Zeiss angefertigt.

## C. Experimenteller Teil

### 1. Entwicklungsgeschichte eines normalen Laubblattes von *Antirrhinum majus* L.

Um die Entwicklungsgeschichten der abweichenden Blattformen genau zu kennzeichnen, ist es angebracht, kurz auf diejenige eines normalen Laubblattes von *Antirrhinum majus* einzugehen. Da die verschiedenen Ausbildungsformen schon in sehr frühen Entwicklungsstadien sich anzeigen, müssen die Teilungsschritte, die zu solchen führen, genau betrachtet werden. Tatsächlich sind nur die allerersten Anlagen der Blattprimordien bei allen untersuchten Formen gleich. Der Epidermis des Vegetationskegels laufen die drei ersten subepidermalen Schichten streng parallel, während die vierte schon unregelmäßiger erscheint (Abb. 1). Die Teilungen, die zum ersten Höcker des neu entstehenden Blattes führen, vollziehen sich in der zweiten bis vierten subepidermalen Schicht. Es sind vorzugsweise perikline. Die Epidermis und die erste subepidermale Schicht passen sich dem entstehenden Primordium durch antikline Teilungen an. Die junge Blattanlage umfaßt etwa ein Drittel des Vegetationskegels.

\* Unter Verwendung des zweiten Teiles einer Dissertation der nat.-math. Fakultät der Universität Freiburg i. Br.

Die nun folgende Entwicklungsperiode wird vor allem durch ein Längenwachstum des Primordiums bestimmt, an dem zuerst noch eine terminale Wachstumszone mit beteiligt ist. Nachdem die Anlage jedoch eine kritische Länge erreicht hat, die bei der Normalform zwischen 0,5—0,6 mm liegt, wird das weitere Wachstum nur noch von einem basal gelegenen Meristem getätigt, während die terminalen Zellen ihre Teilungsbereitschaft verlieren und sich ausdifferenzieren. In diesem ersten Entwicklungsstadium unterscheiden sich Stiel- und Spreitenregion im Oberblatt noch nicht. Wie auf Abb. 2a zu sehen ist, zeichnen sich die ersten Anlagen durch eine Dorsiventralität aus, die hier sowohl der späteren Stielregion wie der Laminazone noch gemeinsam sind. Die Stielzone rundet sich während der Laminarentwicklung etwas ab. Diese Abrundung ist vor allem auf Teilungen zurückzuführen, die in den ventral des Leitbündels gelegenen Zellen ablaufen. Wir können aber hierbei nicht von einem Ventralmeristem sprechen, wie es z. B. TROLL (1955) in einigen unifazialen Blatteilen gefunden hat, da

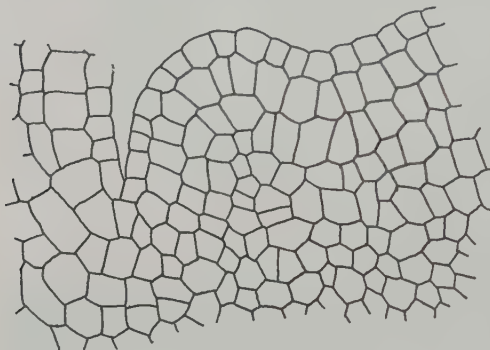


Abb. 1. Teil eines Längsschnittes durch den Sproßvegetationskegel einer normalen Pflanze (etwa 480mal)

die Anordnung und die Form der Zellen gar nicht denen eines Meristems entsprechen. Ebenso wenig kann hier auch nicht ein ebenfalls von TROLL beschriebenes Rundungsmeristem dafür verantwortlich gemacht werden.

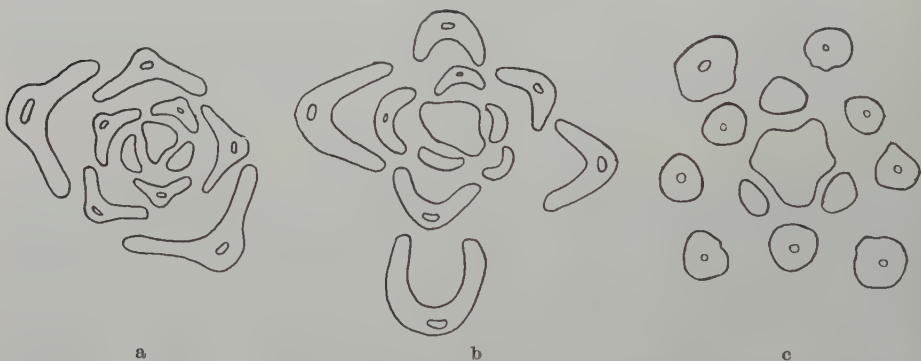


Abb. 2a—c. Querschnitte von Sproßknospen: a einer normalen Pflanze, b der Mutante *graminifolia*, c der filiforme-ähnlichen Mutante (etwa 26mal)

Die Ausbildung der Lamina ist auf die Tätigkeit subepidermaler Randzellen zurückzuführen. Diese treten zuerst in den Rändern der Primordiumspitze auf und werden dann in basipetaler Richtung fortschreitend weiter ausgebildet. Sie gliedern in der Art zweischneidiger Scheitelzellen nach innen Zellen ab (Abb. 3). In diesen, von einer Randzelle abgeteilten Zellen, läuft vorerst jeweils nur eine perikline Teilung ab, und die daraus resultierenden verhalten sich wie folgt. Die der Epidermis anliegenden Zellen behalten anfänglich eine isodiametrische Form bei und teilen sich nur antiklin. Freilich verlieren die der abaxialen Epidermis anliegenden Zellen sehr bald diese Form und gleichen sich den darüber liegenden späteren Schwammparenchymzellen an. Die nach innen abgegebenen Zellen können sich sowohl antiklin als auch periklin teilen. Letzteres geschieht aber nicht oft, da nur etwa 4 Schwammparenchymschichten ausgebildet werden. Anders verhält sich die adaxiale Seite des Blattprimordiums. Erst wenn die Randzellen ihre Teilungsbereitschaft verloren haben, laufen da in den Zellen der ersten subepidermalen Schicht perikline Teilungen ab, die zur Bildung der Palisadenzellen führen. In den Zellen über dem medianen Leitbündel geschieht das nicht. Hier haben die

Zellen bereits ihre Teilungsbereitschaft verloren und die Form ausdifferenzierter Mesenchymzellen angenommen. Die Bildung eines Palisadengewebes unterbleibt hier also. Die weitere Ausbildung des Blattes erfolgt dann durch Streckungswachstum der Zellen und Interzellularraumbildung besonders im Schwammparenchym.

## 2. *Antirrhinum majus* L. *mutatio graminifolia*

Diese Mutante, beschrieben von KUCKUCK und SCHICK (1930), erkennt man schon an den Keimblättern, die schmäler und spitzer ausgebildet sind als die der normalen Pflanzen. Die Primärblätter haben dadurch, daß sie im Vergleich mit der Spitze eine relativ schmale Blattbasis besitzen, ein löffelförmiges Aussehen. Erst nach dem vierten bis fünften Wirtel nehmen die Blätter die typische, schmale *graminifolia*-Form an.

a) *Entwicklungsgeschichte des graminifolia*-Blattes. Bis zum Beginn der Laminaausbildung verläuft die Ent-

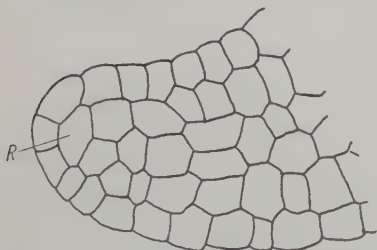


Abb. 3. Querschnitt eines jungen, normalen Blattes mit einer Randzelle (R) (etwa 480mal)

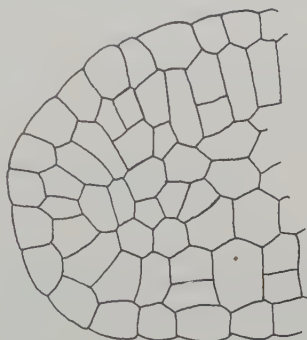


Abb. 4. Teile eines Querschnitts des jungen *graminifolia*-Blattes. Perikline Teilungen in der ersten subepidermalen Schicht (etwa 480mal)

wicklung dieses Blattes wie bei einem normalen Laubblatt. Die Randzellen, auf welche die Bildung einer Blattspreite zurückzuführen ist, gliedern ebenfalls in der Art einer zweischneidigen Scheitelzellen nach innen ab. Auch diese Zellen teilen sich wie in einem normalen Blatte einmal periklin, so daß vier übereinanderliegende Zellen daraus resultieren. In den nach innen abgegebenen Zellen laufen im Gegensatz zu jenen im normalen Blatt von Anfang an mehr perikline Teilungen ab, so daß vom Blattrand her gleich mehrere Zellschichten übereinanderliegen und wir einen gleichmäßig dicken Querschnitt über die gesamte Spreite haben. Selbst der Mittelnerv ist nicht besonders abgesetzt (Abb. 2b). Haben die Randzellen ihre Tätigkeit eingestellt, was bei dieser Mutante sehr zeitig erfolgt, läuft in den Zellen der ersten subepidermalen Schicht je eine perikline Teilung ab und hier im Gegensatz zu der normalen Blattentwicklung sowohl in den Zellen der Blattoberseite als auch der Unterseite (Abb. 4). Wir erhalten so zwei der Epidermis parallel verlaufende Schichten. Während nun die Schichten der Oberseite diese Anordnung beibehalten, werden die auf der abaxialen Seite mit in das Schwammparenchym einbezogen. Aber auch da besteht wieder ein Unterschied gegenüber dem normalen Blatt. Die Zellen der zweiten subepidermalen Schicht nehmen eine mehr oder weniger unregelmäßige Form an, wie es für Schwammparenchymzellen typisch ist, dagegen behalten die Zellen der ersten subepidermalen Schicht eine rechteckige Form bei. Diese Zellen sind angeordnet wie Palisadenzellen, nur daß sie nicht ganz so groß werden und von größeren Interzellularräumen umgeben sind (Abb. 6).



Mit dem Beginn des Streckungswachstums vollzieht sich in den Zellen der ersten subepidermalen Schicht der adaxialen Seite nochmals eine perikline Teilung, so daß nunmehr 3 Schichten der Epidermis parallel laufen, woraus dann ein dreischichtiges Palisadengewebe resultiert (Abb. 5). Wie bei einem normalen Blatt teilen sich auch bei dieser Mutante über dem medianen Leitbündel die Zellen der ersten subepidermalen Schicht nicht. Hier ist also die Palisadenschicht auch unterbrochen. Besonders fällt bei dieser Mutante noch auf, daß die Ausbildung der Palisaden sich über dem Blattrand auf die Unterseite hinzieht, und zwar so, daß die Palisadenschicht in die säulenartige Zellreihe der ersten subepidermalen Schicht der Unterseite übergeht. Durch die Ausbildung der Palisaden am Blattrand wird dieser wulstartig verdickt.

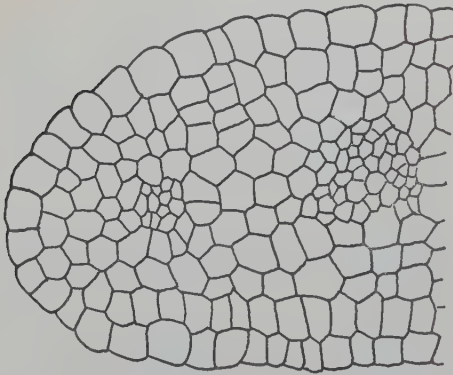


Abb. 5. Querschnitt durch den Rand eines jüngeren *graminifolia*-Blattes. Zweite perikline Teilung der ersten subepidermalen Schicht der Blattoberseite (etwa 240mal)

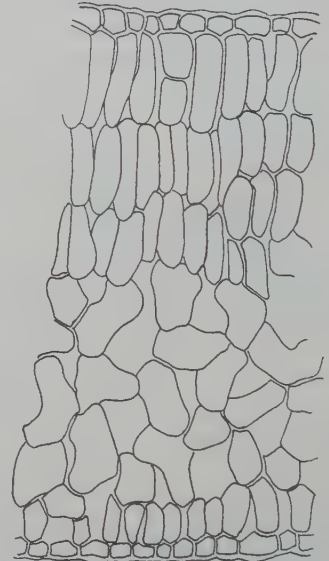


Abb. 6. Querschnitt durch ein ausgewachsenes *graminifolia*-Blatt (etwa 180mal)

b) *Anatomie des ausgebildeten Blattes.* Gegenüber einem normalen Blatt wirkt das *graminifolia*-Blatt fast sukkulent. Dieser Eindruck wird durch die Reduktion der Spreite hervorgerufen, verbunden mit einer Zunahme des Dickendurchmessers. Letzteres ist weniger auf eine Schichtenvermehrung zurückzuführen als auf eine erhebliche Größenzunahme der einzelnen Zellen. Das Blatt der Mutante hat durchschnittlich eine Palisadenreihe und 1—2 Schwammparenchymschichten mehr als ein normales Blatt. Während in einem normalen Blatt, die Epidermen mitgerechnet, 8—9 Schichten übereinanderliegen im Querschnitt, sind es hier 10—11. Maßgeblich beteiligt an dem größeren Durchmesser sind vor allem die Palisadenschichten. In der Tabelle 1 sind Messungen an gleichalten normalen und *graminifolia* Blätter aufgeführt. Die Werte, angegeben in Millimeter, stellen Mittelwerte von Meßreihen dar.

Während in einem ausgewachsenen *graminifolia*-Blatt die Palisadenschicht stärker ausgebildet ist als das Schwammparenchym, ist es im ausgewachsenen normalen Blatt das Schwammparenchym. In einem älteren Blatt der Mutante nimmt das Palisadengewebe  $\frac{3}{5}$  des gesamten Blattquerschnittes ein, in einem normalen Blatt dagegen nur die Hälfte. Aus der Tabelle kann man ferner noch

ersehen, daß das Palisadengewebe des *graminifolia*-Blattes beinahe 4mal mächtiger ausgebildet ist, als das des normalen Blattes, das Schwammparenchym dagegen nur 2,5mal. Vergleichen wir nun noch beispielsweise die erste subepidermale Palisadenreihe, so stellen wir fest, daß die Palisaden bei der Mutante erheblich viel länger sind als in einem normalen Blatt. Während in einem normalen Blatt die Palisaden durchschnittlich 0,051 mm lang und 0,024 mm breit sind, sind sie

Tabelle 1

	Obere	Untere	Palisaden- schicht	Schwamm- parenchym	Palisaden- Schwamm- parenchym	Gesamt- dicke
	Epidermis					
Normales Blatt						
Alt . . .	0,014	0,014	0,122	0,126	1:1,03	0,276
Jung . . .	0,014	0,014	0,063	0,091	1:1,44	0,182
<i>graminifolia</i> -Blatt						
Alt . . .	0,028	0,025	0,424	0,308	1:0,72	0,785
Jung . . .	0,028	0,024	0,294	0,302	1:1,09	0,648

bei der Mutante 0,098 mm lang und 0,029 mm breit. In der Breite unterscheiden sie sich also nur wenig, die normalen Palisaden verhalten sich zu denen der Mutante ungefähr wie 4:5. Die Längendifferenz ist dagegen beträchtlich, sie verhält sich wie 1:2. Das Längen-Breitenverhältnis beträgt bei den Palisadenzellen eines normalen Blattes 2,0:1, bei denen der Mutante 3,4:1. Es kommen allerdings bei der Mutante auch Palisadenzellen vor, die eine Länge von nahezu 0,2 mm haben. Wenn solche Zellen auftreten, dann liegen in der Palisadenschicht nur zwei übereinander.

### 3. Eine filiiforme-ähnliche Mutante von *Antirrhinum majus*

Diese Mutante kann man ebenfalls schon an den Keimblättern erkennen, und zwar sind sie, wie es später bei den Laubblättern noch stärker ausgeprägt ist, nach oben gewölbt. Die Laubblätter fallen dann noch durch das Fehlen der hellen Spur über dem medianen Leitbündel auf und vor allem durch den Besitz einer mehr oder weniger langen Vorläuferspitze. Dadurch, daß die Vorläuferspitze am Vegetationskegel erst zu einer beträchtlichen Länge heranwächst, ehe sie, wenn überhaupt, eine Lamina ausbildet, wird der Vegetationskegel von den jungen Blättern nicht als Knospe eingehüllt, die Spitzen stehen alle aufrecht und bilden einen regelrechten Schopf (Abb. 7). Ein Vergleich mit der Mutante erscheint dadurch gerechtfertigt, weil die hier untersuchte Mutante auch häufig eine reduzierte Blattfläche hat. Zudem scheint die Mutante *filiiforme* (vgl. SCHICK und STUBBE 1934, Abb. 21) auch eine mehr oder weniger ausgeprägte Vorläuferspitze zu besitzen. Allerdings neigt die hier beschriebene Mutante nicht zu Verbänderungen, und Hypokotyltriebe wurden auch nicht beobachtet. Außerdem mutiert die *filiiforme*-ähnliche Mutante mitunter vegetativ zurück, was von der Mutante *filiiforme* nicht beschrieben wurde, jedoch von der Mutante *phantastica* (KUCKUCK und SCHICK 1930). Letztere besitzt nur nadelartige Laubblätter, wie wir sie fast ausschließlich an älteren Trieben der hier beschriebenen Mutante haben. Es unterbleibt dann eine Laminabildung.

Von einer normalen Pflanze unterscheidet sich die *filiiforme*-ähnliche Mutante noch dadurch, daß sie bei Blühbeginn erst 70—80% von deren Wuchshöhe erreicht hat. Ferner sind die Blüten an den wenigblütigen Infloreszenzen um  $\frac{1}{2}$  cm kleiner als die normalen. Die Oberlippe ist zudem noch stark verkürzt und die Unterlippe wulstig, was mit durch die zurückgeschlagenen Zipfel der Unterlippenpetalen bedingt ist.

a) *Entwicklungsgeschichte des Blattes*. Trotz bedeutender morphologischer Unterschiede laufen die ersten Entwicklungsvorgänge der jungen Blattanlage bis zum Erreichen der kritischen Länge wie bei einem normalen Blatt ab. Bei

letzteren beginnen sich die Randzellen auszubilden bzw. ihre Tätigkeit aufzunehmen, wenn das weitere Längenwachstum von der Basis aus erfolgt. Das unterbleibt aber bei dieser Mutante. Es werden hier in der vorderen Zone keine Randzellen angelegt, was natürlich auch zur Folge hat, daß keine Spreite ausgebildet wird. Wird nun überhaupt keine Lamina angelegt, wie es bei Blattanlagen an älteren Trieben häufig geschieht, dann beschränkt sich der ganze Entwicklungsprozeß auf ein Längenwachstum durch eine terminale Zone, später durch ein basal gelegenes Meristem mit anschließendem Streckungswachstum der einzelnen Zellen. Wird dagegen eine Lamina angelegt, dann ist die Entwicklung bis zur Bildung der Vorläuferspitze die gleiche, danach bemerkt man aber, in einer von



Abb. 7. Trieb einer filiforme-ähnlichen Mutante (rechts) neben einem normalen Trieb (links) (etwa  $\frac{1}{2}$  der nat. Gr.)

Blatt zu Blatt verschiedenen Länge von der Spitze, eine Höckerbildung auf der Ventralseite. Diese ist auf eine Zunahme perikliner Teilungen in den ventral des medianen Leitbündels gelegenen Parenchymzellen zurückzuführen (Abb. 8). Ich möchte hier nicht von einem ausgesprochenen Ventralmeristem sprechen, es liegt aber auch kein Ersatzspreitenmeristem vor, wie es LÜCK (1956) beschreibt. Obwohl das Ersatzspreitenmeristem nach LÜCK aus parenchymatischen, dem Leitbündel nahe gelegenen Zellen entsteht, kommt es doch hierbei zu einer plattenmeristematischen Gliederung in Zellschichten, deren Zahl zwischen 7—8 schwankt.

Die Bildung des Ventralwulstes bei dieser Mutante schreitet basipetal fort. In den Außenrändern dieses Wulstes bilden sich Randzellen aus, die dann eine Spreitenentwicklung einleiten. Die Ausbildung der Lamina ähnelt derjenigen der Mutante *graminifolia*. Dies trifft zu in der Art, wie das dreischichtige Palisadengewebe gebildet wird, wie auch in einer allerdings geringfügigen Zunahme perikliner Teilungen gegenüber antiklinen, wodurch eine Schichtenvermehrung bedingt ist. Besonders ist noch zu bemerken, daß die periklinen Teilungen in der subepidermalen Schicht, die zu der Ausbildung von Palisadenzellen führen, hier nicht wie bei der Mutante *graminifolia* oder bei einem normalen Blatt über dem medianen Leitbündel ausbleiben. Daraus ergibt sich dann ein, über den gesamten Querschnitt durchgehend verlaufendes, dreischichtiges Palisadengewebe, dessen Zellen über dem Leitbündel nicht einmal merklich in der Größe reduziert sind.



Parallel mit der Ausbildung des Ventralwulstes und der Lamina läuft noch eine besondere Ausbildung des medianen Leitbündels. Da die Lamina gleichfalls auf die Mittelrippe aufgelagert wird, ist eine Ableitung der Lateralbündel von dem medianen Bündel schlecht möglich. Es erfolgt deshalb die Ausbildung eines Zweiten medianen Bündels, eines Ventralmedianus, wie man ihn nach TROLL und MEYER (1955) bezeichnen kann, der sich von dem ursprünglichen, medianen Bündel abzweigt, der dann als Dorsalmedianus bezeichnet werden müßte (Abb. 9). Zum Vergleich ist noch der Verlauf des medianen Leitbündels eines normalen

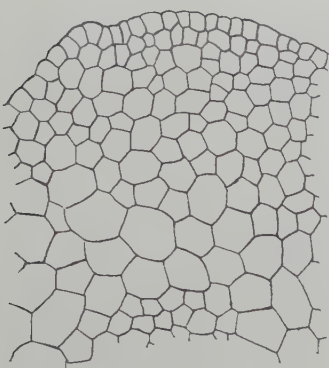


Abb. 8a

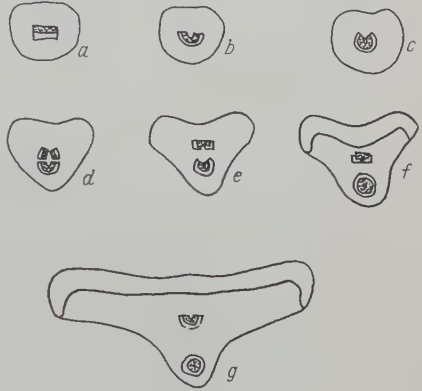


Abb. 8b

Abb. 9

Abb. 8a u. b. a Ausbildung des Ventralwulstes der filiforme-ähnlichen Mutante (etwa 240mal),  
b Querschnittübersicht

Abb. 9. Teilung des medianen Leitbündels im Blatt der filiforme-ähnlichen Mutante (etwa 15mal)

Blattes mitgezeichnet (Abb. 10). In der normalen Pflanze haben wir im Stengel mehrere peripher gelegene kollaterale Bündel mit Außenphloem und Innenxylem. Das zum Blatt abgeleitete Bündel behält diese Struktur bei. Das Phloem kommt dadurch nach der Blattunterseite zu liegen, das Xylem nach der Oberseite. Bei der Mutante haben wir im Stengel die gleiche Anordnung und Ausbildung der Gefäße. Auch der zum Blatt führende Strang ist vorerst noch kollateral. Sobald er aber in den Blattstiel eintritt, ändert sich sein Querschnitt. Das Bündel beginnt sich an den Rändern hochzuziehen (Abb. 9b) und rundet sich schließlich zu einem radialen Strang ab (Abb. 9c). Das Phloem liegt außen, das Xylem innen. Im Zentrum sind meist noch einige parenchymatische Zellen eingeschlossen. Häufig ist der Ring auf der Ventralseite nicht ganz geschlossen, was aber auf die weitere Entwicklung keinen Einfluß hat. Der radiale Strang teilt sich in der Mitte, parallel zur Blattoberfläche (Abb. 9d, e), und die beiden Teile werden durch parenchymatische Zellen getrennt. Während sich das dorsal gelegene

Bündel bald wieder zu einem radialen abrundet, kann das ventral gelegene eine kollaterale Form beibehalten. Häufiger rundet es sich aber auch wieder ab. Allerdings bleibt dann hier der Ring auf der Ventralseite durch einige Parenchymzellen getrennt. Nach dieser Seite zu liegt auch kein Phloem. Dieses zieht sich nur bis etwas über die Hälfte des Ringes hoch, während sich beim Dorsalmedianus das Phloem als ein geschlossener Ring um das Xylem herumzieht. Es ist aber gleich, ob der Ventralmedianus kollateral oder radial ausgebildet ist, die von ihm abführenden Lateralnerven sind stets kollateral.

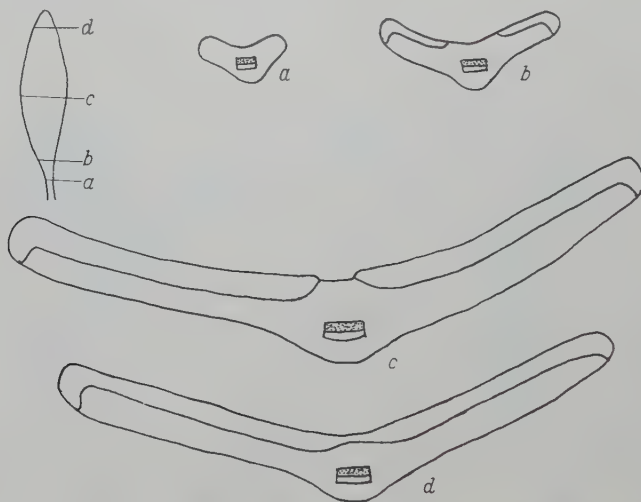


Abb. 10. Verlauf des medianen Leitbündels in einem normalen Blatt (etwa 15mal)

b) *Anatomie des ausgebildeten Blattes*. Wenn auch die Vorläuferspitze im äußeren Bau keine Dorsiventralität erkennen läßt, so kann man doch an einem Querschnitt feststellen, daß die Zellen der Oberseite isodiametrischer ausgebildet sind und mehr Chlorophyll enthalten als die der Unterseite. Zudem besitzt die Epidermis der Unterseite Spaltöffnungen.

Wie schon erwähnt, besitzt diese Mutante ein dreischichtiges Palisadengewebe. Trotzdem ist die Differenz der Blattdicke gegenüber einem normalen Blatt nicht so groß wie bei der Mutante *graminifolia* (s. Tabelle 1 und 2).

Tabelle 2

	Obere	Untere	Palisaden- schicht	Schwamm- parenchym	Palisaden- Schwamm- parenchym	Gesamt- dicke
	Epidermis					
filiforme-ähnliches Blatt						
Alt . .	0,015	0,014	0,150	0,151	1,0:1,0	0,330
Jung . .	0,013	0,013	0,124	0,108	1,0:0,8	0,258

Das Schwammparenchym zeigt bezüglich der Größe keine so große Abweichung von dem eines normalen Blattes, wie es bei der Mutante *graminifolia* der Fall ist. In den älteren Blättern der Mutante ist das Schwammparenchym fast ebenso mächtig wie das Palisadengewebe. Die größere Dicke des Blattes ist lediglich

auf eine Schichtenvermehrung und nicht wie bei der Mutante *graminifolia* auf eine bedeutende Größenzunahme der einzelnen Zellen zurückzuführen. Hier haben wir eine Palisadenschicht und 1—2 Schwammparenchymschichten mehr. Vergleichen wir die Größe der Palisaden der ersten subepidermalen Reihe — die Palisaden sind im normalen Blatt 0,051 mm lang und 0,024 mm breit und in der Mutante 0,060 mm lang und 0,027 mm breit —, so stellen wir fest, daß die Größendifferenzen nicht sehr bedeutend sind.

#### 4. *Antirrhinum majus* L. *mutatio cupuliformis*

Diese Mutante trat in mehreren  $F_2$ -Nachkommenschaften eines Chemikalienversuches auf. Beschrieben wurde sie schon von SCHICK und STUBBE (1934). Man erkennt die Mutante in einem sehr frühen Entwicklungsstadium an den beiden verwachsenen Keimblättern, die zu einem urnenförmigen Becher auswachsen. Durch diese Form unterscheidet sich der Keimblattbecher von den später aus dem Hypokotyl hervorgehenden, die eine unregelmäßige Gestalt aufweisen (Abb. 11). Die weitere Anlage von Blättern aus dem Hypokotyl erfolgt deshalb, weil der von dem Keimblattbecher eingeschlossene Vegetationskegel nicht mehr funktionsfähig ist. Die Zahl der aus dem Hypokotyl hervorgehenden Triebe schwankt zwischen 4 und 8. Sie hängt vor allem davon ab, wann ein derartiger Trieb zu einem Sproß auswächst. Dies kann aber nur an einem Blatt geschehen, dessen Lamina nicht zu einem Becher zusammengeschlossen ist, und das an der Laminabasis noch einen funktionsfähigen Vegetationskegel besitzt. Der sich entwickelnde Sproß zeichnet sich vor allem durch eine unregelmäßige Anlage und Ausbildung der Blätter, die zudem noch sehr groß werden können, und vor allem durch eine starke Neigung zur Verbänderung aus. Die Bildung einer Infloreszenz wurde nie beobachtet. Nur an einzelnen Trieben, die sich von den anderen durch kleinere Blätter und etwas kürzere Internodien auszeichneten, wurden Ansätze von Blüten beobachtet, die aber stark mißbildet waren. Sie bestanden meist nur aus 3—5 weißen, sehr kleinen petaloiden Lappchen, die aus einem kelchblattkreisähnlichen Blattwirtel herausragten. Von einem Androeum bzw. Gynaeum waren nicht die geringsten Ansätze zu erkennen. Diese Mutante läßt sich ohne Schwierigkeiten über 2 Jahre im Gewächshaus kultivieren. Stecklingsversuche gelangen nicht.



Abb. 11. Mutante *cupuliformis*. K = der urnenförmige Keimblattbecher (etwa 4mal)

a) *Entwicklungsgeschichte der Mutante.* Es wurde schon erwähnt, daß der Keimblattbecher aus den beiden miteinander verwachsenen Keimblättern gebildet wird, im Gegensatz zu den Hypokotylbechern, die nur aus einer Lamina bestehen. Die beiden Keimblätter sind nicht vom Anfang an miteinander verwachsen. Die Primordien werden noch getrennt angelegt, ehe sie sich an der Basis, bedingt durch ein Breitenwachstum der Anlagen, berühren und zu einem geschlossenen meristematischen Ring um den Vegetationskegel herum verschmelzen. Da dies allerdings schon in einem sehr frühen Entwicklungsstadium geschieht, bilden die Keimblätter, wenn man sie eben erkennen kann, eine flache Schale. Anfangs ist noch der gesamte Ringwulst meristematisch, später jedoch erfolgt das weitere Längenwachstum der Lamina nur noch von der Basis aus. Man kann auch hier wie bei einem normalen Blatt eine Stiel- und eine Spreitenregion unterscheiden, und zwar durch das Vorhandensein von Randzellen in der Spreitenregion, die in der Stielzone fehlen. Am Grunde der von den Stielen gebildeten



Röhre liegt der funktionsunfähige Vegetationskegel, dessen Zellen schon früh ihre Teilungsbereitschaft verloren haben.

Die wahrscheinlichen Ursachen, die die weitere Ausbildung von Blättern aus dem Hypokotyl bedingen, werden in der Diskussion erläutert. Die Teilungen, die hier zur Anlage eines neuen Blattes führen, beginnen in der Epidermis. Es laufen zuerst in den Epidermiszellen antikline Teilungen ab und erst danach perikline (Abb. 12). Die Teilungen greifen dann auf die darunter liegenden Zellen (Abb. 13)

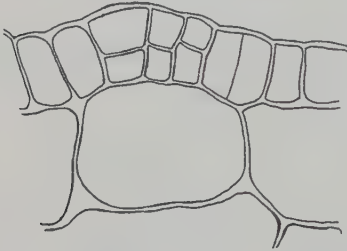


Abb. 12. Erste Teilungen in der Epidermis des Hypokotyls (etwa 480mal)

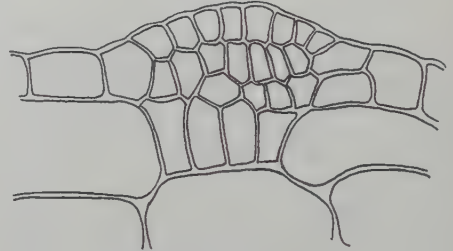


Abb. 13. Antikline Teilungen in der ersten subepidermalen Schicht des Hypokotyls (etwa 480mal)

über und schreiten fort bis zum Leitbündel. Die daraus hervorgehenden Zellen ergeben ein prokambiales Leitgewebe, aus dem dann das Leitbündel hervorgeht, welches die neue Anlage mit dem Leitungssystem der Pflanze verbindet. Das



Abb. 14. Junge Hypokotyltriebe. Am rechten Trieb ist die Lamina-basis um den Stiel herum verwachsen (etwa 25mal)

Meristem, aus dem sich der neue Trieb entwickelt, geht vorzüglich aus den ursprünglichen Epidermiszellen hervor. Dieser wächst in einer für die Hypokotyltriebe charakteristischen Form aus. Es wird kein bifaziales Primordium gebildet, sondern ein unifazialer Höcker, an dessen Spitze sich die Lamina entwickelt. Diese Anlage wächst immer terminal, bis sie sich in der Bildung eines Bechers erschöpft oder zu einem Sproß auswächst. Als erste Anlage eines Bechers erkennt man einen Wulst, der anfangs nur einen Teil, später aber die gesamte terminale Spitze umfaßt (Abb. 14). Die weitere Ausbildung des

Bechers erfolgt durch ein Längenwachstum der Anlage, welches von der Basis der sich bildenden Lamina ausgeht, wobei das gesamte meristematische Gewebe aufgebraucht wird. Die Spreitenentwicklung ist auf die Tätigkeit von Randzellen zurückzuführen.

Mitunter umschließt die Lamina nicht die gesamte Spitze, so daß ein bifaziales Blatt entsteht. In diesem Falle bleibt dann meist an der Blattbasis ein Teil des Meristems erhalten, welcher zu einem neuen Blatt oder zu einem Sproß auswachsen kann. Mit dem Augenblick, an dem ein Hypokotyltrieb weiterwächst und einen Sproß entwickelt, hört die weitere Ausbildung neuer Anlagen am Hypokotyl auf.

b) Zur Anatomie der Becherblätter. Im anatomischen Aufbau gleichen die Spreiten der Keimblattbecher wie der Hypokotylbecher denen der Keimblätter normaler Pflanzen. Im Querschnitt liegen unter einer einreihigen Palisadenschicht

noch 2—3 Schwammparenchymsschichten. Im Innern des Bechers ist die Oberfläche stark gefaltet, was erkennen läßt, daß ein normales Spreitenwachstum stattgefunden hat und die Entfaltung derselben durch die Becherbildung gehemmt ist. Auffällig ist noch, daß die Epidermiszellen der Becherinnenseite wesentlich größer sind als die der Außenseite. Bezüglich des Leitbündelverlaufes treten keine Besonderheiten auf. Das Bündel, das in den Keimblattbecher führt, teilt sich vor der Stielregion in zwei gleichstarke Stränge, die sich dann beim Übergang in die Lamina aufteilen. Das Bündel, welches einen Hypokotyltrieb innerviert, teilt sich kurz vor der Lamina in mehrere kleine Gefäßstränge auf. Sie liegen alle einseitig verlagert. Wird ein Sproß gebildet, so lagert sich das Bündel gleich am Anfang des sich bildenden Sproßes um, und zwar in der Art, wie wir es im Hypokotyl einer normalen Pflanze haben.

## D. Diskussion

### 1. Genetik

Bei allen hier beschriebenen Mutanten handelt es sich ausschließlich um monohybrid spaltende Formen. Bei der ersten der in der vorliegenden Arbeit betrachteten Mutante, der Mutante *graminifolia*, gibt es eine Reihe multipler Allelomorphe. Diese unterscheiden sich durch eine verschiedene Ausbildungsform der Blätter, welche wohl auch zum Teil auf ein verändertes Verhältnis von antiklinen zu periklinen Teilungen zurückzuführen ist. Einzelne dieser Mutanten mutieren vegetativ verschieden stark zurück. Bei der hier untersuchten war der Rückmutationsprozentsatz bei 7 Nachkommenschaften zu je 60 Pflanzen gleich Null.

Einer ähnlichen Reihe multipler Allelomorphen dürfte auch die *filiforme*-ähnliche Mutante angehören. Bestärken läßt sich diese Annahme noch durch eine zweite Mutante, die ebenfalls in der  $F_2$  eines Chemikalienversuches auftrat. Bei dieser war die Expressivität des mutierten Gens etwas anders, und zwar insofern, als bei dieser Mutante die Vorläuferspitze fehlte. Andererseits hatte sie zahlreiche Blattrudimente, bei denen keine Lamina ausgebildet war. Wurde bei dieser Mutante eine Spreite entwickelt, so besaß diese ein durchgehendes Palisadengewebe, auch war die Mittelrippe stark von der Blattunterseite abgesetzt. Eine Teilung des medianen Leitbündels in einen Ventral- und Dorsalmedianus unterblieb.

Es wurde schon bei der Beschreibung im experimentellen Teil auf die ähnlichen Erscheinungsformen der Mutante *filiforme*, *phantastica* und der *filiforme*-ähnlichen Mutante hingewiesen. Letztere besitzt innerhalb der Pflanze verschiedene Formen der Blattausbildung. Einmal nadelartige Spitzen, zum anderen Blätter mit Vorläuferspitzen und einer ausgebildeten Lamina und schließlich noch fast normale Blätter. Besonders ist zu bemerken, daß diejenigen Blätter mit der reduziertesten Blattspreite immer an älteren Trieben auftraten, während die zuerst angelegten Blätter den normalen Blättern noch am nächsten kamen. Es kann durchaus sein, ist aber bei dieser Mutante noch nicht erwiesen, daß der Wirkungsgrad des mutierten Gens vom Entwicklungszustand der Pflanze abhängig ist. Inwieweit die *filiforme*-ähnliche Mutante mit der hier beschriebenen Mutante *graminifolia* verwandt ist, ob sie zur gleichen allelomorphen Reihe gehören,

kann nur durch Kreuzungsexperimente festgestellt werden. Es ist aber nicht anzunehmen, da die Auswirkungen der mutierten Gene in beiden Fällen ziemlich voneinander abweichen. SCHIEMANN (1926) bezeichnete allerdings die Mutante *filiforme* als eine *graminifolia*-Mutante.

## 2. Entwicklungsgeschichte

Die Ursachen, die die abweichende Ausbildung des *graminifolia*-Blattes vom Normalblatt bedingen, sind an und für sich gering. Aber doch sind die Unterschiede wesentlich. Die charakteristische Ausbildung der *graminifolia*-Blätter ist lediglich auf eine Verminderung der Zahl der antiklinen Teilungen zugunsten der periklinen zurückzuführen und auf ein Größerwerden der Zellen. Letzteres ist wohl einer Wuchsstoffwirkung zuzuschreiben. Auffallend ist, wie es sich leicht errechnen läßt, daß die Summe der Zellvolumina dieser Mutante weitestgehend übereinstimmt mit der des normalen Blattes. — Bei der *filiforme*-ähnlichen Mutante sind es 2 Faktoren, die die Form des Blattes bestimmen. Einmal die Ausbildung einer Vorläuferspitze und zweitens die Teilungstätigkeit der ventral des medianen Leitbündels gelegenen Zellen, die zu einer Wulstbildung führen, aus dem dann die Lamina hervorgeht. Vorläuferspitzen sind im Pflanzenreich nicht selten (s. TROLL 1948). Nach TROLL entsteht eine Vorläuferspitze durch Hemmung des Randzellenwachstums im Spitzenbereich des Blattes.

Die stärksten morphologischen Abweichungen von einer normalen Pflanze zeigt die Mutante *cupuliformis*. TROLL schreibt (1955) von den Schildblättern, denen man die Becherblätter in gewisser Hinsicht gleichsetzen kann, daß sie epeltaten Blättern gegenüber bekanntlich dadurch ausgezeichnet sind, daß die Spreite über ihre Unterseite mit dem Stiel in Verbindung steht. Dies trifft bei der Mutante *cupuliformis* für die aus den Hypokotyltrieben gebildeten Blättern zu, nicht aber für den Keimblattbecher. Nach TROLL ist eine Unifazialität des Stieles Voraussetzung dafür. ROTH (1952) macht für das Zustandekommen peltater Blattformen ein Ventralmeristem verantwortlich, eine Unifazialität des Stieles sei ihrer Meinung nach nicht nötig. TROLL schreibt (1955, S. 342) diesbezüglich, daß ROTH die Furchung der Stielprimordien mit Bifazialität bzw. die Primordialränder mit echten Randbildungen verwechselt. Bei den hier untersuchten Becherblättern ist weder ein besonderer Querwulst noch ein Ventralmeristem an ihrer Bildung beteiligt, was auch leichter erklären läßt, daß mitunter die Bildung eines Ringwulstes unterbleibt und epeltate Blattformen entstehen. Die ungleichmäßige Form der Hypokotylbecher ist darauf zurückzuführen, daß der anfängliche Ringwulst der Laminaanlage nicht überall gleichmäßig gebildet wird.

Das Zustandekommen der Hypokotyltriebe läßt sich folgendermaßen erklären. Eine normale Ausbildung des Sproßes ist dadurch, daß der Vegetationskegel zwischen den beiden Keimblättern funktionsunfähig geworden ist, unterbunden. Ähnliches tritt ja bei anderen Pflanzen häufig auf, und diese gehen dann dazu über, daß sie Regenerate bilden, meist dann auch aus dem Hypokotyl. Als ebensolche Regenerate lassen sich auch die aus dem Hypokotyl der Mutante *cupuliformis* hervorgehenden Blätter bzw. Triebe auffassen. Typisch ist auch, daß die Regeneratbildungen häufig mit Teilungen in der Epidermis beginnen. Es ist wohl möglich, daß die Epidermiszellen durch eine zunehmende Wuchsstoffkonzentration im Hypokotyl zu Teilungen angeregt werden, aber es ist noch nicht



erwiesen. Ähnliches beobachteten auch SCHICK und STUBBE (1934) bei der Mutante *filiiforme*. Bei dieser sind die Sproßvegetationskegel nach einer gewissen Entwicklungszeit nicht mehr in der Lage gewesen weiterzuwachsen. Es kam dann auch zur Bildung von Hypokotyltrieben.

Wieweit nun an der Bildung der verschiedenen Blattformen Wuchsstoffe eine Rolle mitspielen (AVERY 1933, 1935), kann nicht gesagt werden. BÜNNING (1948) nimmt an, daß Wuchsstoffe bei den Blattformgestaltungsvorgängen entscheidend sind. WENCK (1952) stellte an den Blättern von *Codiaeum variegatum f. interruptum* fest, daß die Einwirkung von 2,3,5,-Trijodbenzoesäure (Tiba), einem Auxinantagonisten, während der Blattentwicklung die Spreitenreduktion aufhebt. KENDRICK und MIDDLETON (1954) erhielten nach Behandlung von Spinat mit 2,4 D trichterförmige Blattverwachsungen. All diese Versuche zeigen die Möglichkeit, daß bei den in der vorliegenden Arbeit behandelten Blattformmutanten eine Wuchsstoffwirkung in Betracht gezogen werden kann.

### Zusammenfassung

Die Ergebnisse der in der vorliegenden Arbeit vorgenommenen entwicklungsgeschichtlichen Untersuchungen sind folgende:

1. Die charakteristische Ausbildung des *graminifolia*-Blattes ist
  - a) auf eine Verschiebung des Verhältnisses der antiklinen Teilungen zugunsten der periklinen und
  - b) vor allem auf eine erhebliche Größenzunahme der einzelnen Zellen zurückzuführen.
2. Die *filiiforme*-ähnliche Mutante zeichnet sich von einem normalen Blatt aus durch
  - a) den Besitz einer Vorläuferspitze, deren Entstehung auf eine Hemmung des Randzellenwachstums zurückzuführen ist,
  - b) eine auf die Mittelrippe aufgelagerte Lamina, die aus einem Ventralwulst hervorgeht, und
  - c) ein durchgehendes, dreischichtiges Palisadengewebe.
3. Der erste Becher der Mutante *cupuliformis* wird von den beiden Keimblättern gebildet. Den aus dem Hypokotyl hervorgehenden Bechern liegt nur eine Lamina zugrunde.
4. In der Diskussion werden die entwicklungsgeschichtlichen und anatomischen Befunde mit ähnlichen anderer Autoren verglichen.

### Literatur

- AVERY, G. S.: Structure and development of the tobacco leaf. Amer. J. Bot. **20**, 565—592 (1933). Differential distribution of a phytohormone in the developing leaf of *Nicotiana* and its relation to polarized growth. Bull. Torrey Bot. Club **62**, 313—330 (1935). — BERGFELD, R.: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an einigen Blütenformmutanten der Sippe 50 von *Antirrhinum majus* L. Z. Vererbungslehre **87**, 784—797 (1956). — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Berlin 1948. — DEINAGA, V.: Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte des Blattes und der Anlage der Gefäßbündel. Flora (Jena) **85**, 439—451 (1898). — GOEBEL, K.: Organographie der Pflanzen, 3. Aufl. Jena 1933. — HAMMOND, D.: I. The expression of genes for leaf shape in *Gossypium hirsutum* L. Amer. J. Bot. **28**, 124—138 (1941). — The expression of genes for leaf shape in *Gossypium hirsutum* L. and *G. arboreum* L. II. The expression of genes for leaf shape in *Gossypium arboreum* L. Amer. J. Bot. **28**, 138—151 (1941). — KENDRICK, J. B., and J. T. MIDDLETON:

Funnel leaf of spinach induced by 2,4 D. Bull. Torrey Bot. Club **81**, 137—139 (1954). — KNAPP, E.: Die Bezeichnung der Gene von *Antirrhinum majus* nebst einigen Bemerkungen zur genetischen Nomenklatur und Begriffsbildung. Z. Vererbungslehre **84**, 213—250 (1941). — KUCKUCK, H., u. R. SCHICK: Die Erbfaktoren von *Antirrhinum majus* und ihre Bezeichnung. Z. Vererbungslehre **56**, 51—83 (1930). — LÜCK, H. B.: Untersuchungen über die Blattentwicklung an laciniaten und asplenifoliaten dikotylen Gehölzen. Z. Vererbungslehre **87**, 497 bis 527 (1956). — OEHLKERS, FR.: Die Auslösung von Mutationen durch Chemikalien bei *Antirrhinum majus*. Z. Vererbungslehre **87**, 584—589 (1956). — RENNER, O.: Zur Entwicklungsgeschichte randpanaschierter und rein grüner Blätter von *Sambucus*, *Veronica Pelargonium*, *Spiraea*, *Chlorophytum*. Flora (Jena) **30**, 454—466 (1936). — ROTH, I.: Zur Entwicklungsgeschichte des Blattes mit besonderer Berücksichtigung von Stipular- und Liguralbildungen. Planta (Berl.) **37**, 299—336 (1949). — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Schildblätter. Planta (Berl.) **40**, 350—376 (1952). — SCHICK, R., u. H. STUBBE: Die Gene von *Antirrhinum majus*. II. Z. Vererbungslehre **62**, 249—290 (1932). — Die Gene von *Antirrhinum majus*. III. Z. Vererbungslehre **66**, 452—462 (1934). — SCHIEMANN, E.: Eine Mutation in der graminifolia-Sippe von *Antirrhinum majus*. Z. Vererbungslehre **41**, 53, 53—54 (1926). — THIELKE, CH.: Beiträge zur Entwicklungsgeschichte und zur Physiologie panaschierter Blätter. Planta (Berl.) **36**, 2—33 (1948). — Beiträge zur Entwicklungsgeschichte unifazialer Blätter. Planta (Berl.) **36**, 154—177 (1948). — TROLL, W.: Handwörterbuch der Naturwissenschaften, 2. Aufl., Bd. 1. S. 1026—1056, 1931. — Morphologie der schildförmigen Blätter. Planta (Berl.) **17**, 153—168 (1932). — Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. 1, Teil 2. Berlin 1939. — Lehrbuch der allgemeinen Botanik, 1948. — TROLL, W., u. H. J. MEYER: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen über das Zustandekommen unifazialer Blattstrukturen. Planta (Berl.) **46**, 286—360 (1955). — WHALLEY, W. S., and C. Y. WHALLEY: A development analysis of inherited leaf patterns in *Tropaeolum*. Amer. J. Bot. **29**, 195—200 (1942). — WENCK, U.: Die Wirkung von Wuchs- und Hemmstoffen auf die Blattform. Z. Bot. **40**, 33—51 (1952). — ZIMMERMANN, P. W.: Formative influence of growth substances on plants. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. **10**, 152—159 (1942).

Dr. RAINER BERGFELD, Freiburg i. Br., Botanisches Institut der Universität,  
Schänzlestr. 9—11

## Kurze Mitteilung

Aus dem Botanischen Institut der Universität Köln

### DIE ZYTOLOGIE DER ASCUSENTWICKLUNG VON *PODOSPORA ANSERINA*

Von

GERHARD FRANKE

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 14. März 1957)

Von dem tetrasporen Ascomyceten *Podospora anserina*, dessen Entwicklungsgeschichte und Genetik mehrfach untersucht wurde (DOWDING 1931, AMES 1934, DODGE 1936, RIZET und ENGELMANN 1949, RIZET 1952, ESSER 1956), ist das Verhalten der Kerne während der Ascusentwicklung noch nicht bekannt.

An Hand von Quetschpräparaten aus Perithezien verschiedener Entwicklungsstufen, die mit Methylenazur-Methylviolett-Methylenblau-Eosin (GIEMSA) nach der für diese Zwecke modifizierten Methode von ROMBAUT (1954) gefärbt wurden, konnte die Anordnung der Kerne im Laufe der Entwicklung der Asci von der Hakenbildung der ascogenen Hyphen bis zur Sporenreife beobachtet werden.

Durch den bei den Ascomyceten bekannten Mechanismus der Hakenbildung gelangen 2 Kerne in den jungen Ascus, die anschließend verschmelzen. In Abb. 1 sind die nach der Karyogamie ablaufenden Stadien der Kernteilungen und der Sporenbildung dargestellt. In der 1. Reifungsteilung, durch welche die Chromosomenzahl reduziert wird, ist die Spindel stets in Ascuslängsrichtung orientiert (a). Während in der 2. Reifungsteilung (Äquationsteilung) die Spindeln meist quer zur Längsachse liegen (b), erscheinen sie im 3. Teilungsschritt (postmeiotische Mitose) wieder parallel oder schräg dazu gelagert (c). Spindelfasern waren vor allem im 2. und 3. Teilungsstadium zu erkennen. Nach der postmeiotischen Mitose wandern die Schwesterkerne auseinander, so daß jeweils zwei Nichtschwesterkerne dieser letzten Teilung nebeneinander liegen (d). Gleichzeitig gehen sie in ein Ruhestadium über und differenzieren sich in Nucleolus und Chromatingerüst. Die Sporenbildung wird dadurch eingeleitet, daß sich um je ein Kernpaar das Zytoplasma kontrahiert. Die Paare von Nichtschwesterkernen formieren sich parallel zur Längsachse in Tandemanordnung (e). Das Sporenplasma nimmt nun eine keulenartige Form an unter gleichzeitiger Sporenmembranbildung, die vom oberen und unteren Teil der „Keule“ ihren Ausgang nimmt. Das Sporenplasma selbst ist homogen und enthält je 2 Kerne (f). In späteren Reifestadien erkennt man deutlich ein Breitenwachstum des oberen Teiles der Spore. Schließlich erfolgt basal die Abschnürung eines stiel förmigen Appendix (g). Im Gegensatz zu den von MOREAU (1953) gemachten Beobachtungen finden vor der Abschnürung des Appendix keine weiteren Kernteilungen statt. Ein Einwandern von einem Kern oder von beiden in den Appendix war nicht festzustellen.



Diese Versuchsergebnisse bestätigen die von RIZET und ENGELMANN (1949) auf Grund genetischer Analysen gemachte Aussage, daß die beiden Kerne einer Spore Nichtschwesterkerne der postmeiotischen Mitose sind.

Die Giemsa-Färbung eignet sich nicht nur zum Studium der Kernverhältnisse im Ascus, sondern auch für die zytologischen Untersuchungen der Meiosestadien.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

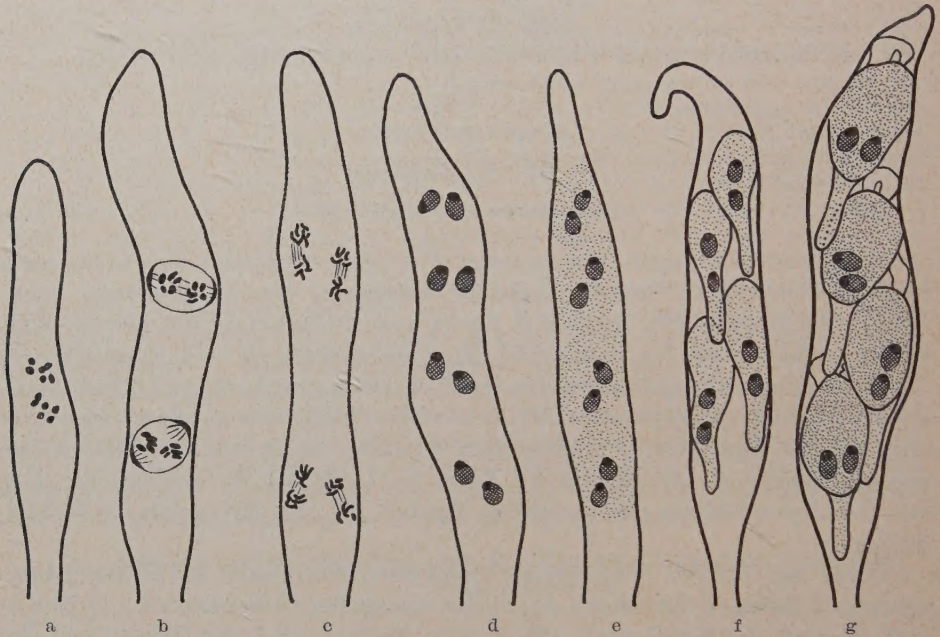


Abb. 1. Entwicklungsstadien der Kernteilungen und der Sporenbildung im Ascus von *Podospora anserina*. Vergr. etwa 1000×

### Literatur

- AMES, L. M.: Hermaphroditism involving self-sterility and cross-fertility in the ascomycete *Pleuraea anserina*. *Mycologia* (N. Y.) **26**, 392—414 (1934). — DODGE, B. O.: Spermatia and nuclear migrations in *Pleuraea anserina*. *Mycologia* (N. Y.) **28**, 284—291 (1936). — DOWDING, E. S.: The sexuality of the normal, giant and dwarf spores of *Pleuraea anserina* (Ces.) Kuntze. *Ann. of Bot.* **45**, 1—14 (1931). — ESSER, K.: Die Inkompatibilitätsbeziehungen zwischen geographischen Rassen von *Podospora anserina* (Ces.) Rehm. I. Die genetische Analyse der Semi-Inkompatibilität. *Z. Vererbungslehre* **87**, 595—624 (1956). — MOREAU, M. et Mme MOREAU: Observations cytologiques sur les Ascomycètes du genre *Pleuraea* Fr. *Revue Mycol.* **16**, 198—208 (1953). — RIZET, G.: Les phénomènes de barrage chez *Podospora anserina*. I. Analyse génétique des barrages entre souches S et s. *Rev. Cytol. et Biol. végét.* **13**, 51—91 (1952). — RIZET, G., et C. ENGELMANN: Contribution à l'étude génétique d'un Ascomycète tétrasporé: *Podospora anserina* (Ces.) Rehm. *Rev. Cytol. et Biol. végét.* **11**, 202—304 (1949). — ROMBAUT, J.: Méthode de mise en évidence des noyaux dans les cellules du *Penicillium chrysogenum* Thom. *C. r. Acad. Sci. Paris* **239**, 1071—1073 (1954).

GERHARD FRANKE, Botanisches Institut der Universität, Köln-Lindenthal, Gyrhofstr. 17



OEHLKERS, F., Bastardierungsversuche in der Gattung <i>Streptocarpus</i> Lindl. VI. Die genischen und plasmonischen Grundlagen der Blütenschlitzung verschiedener <i>Streptocarpus</i> -Bastarde, sowie über die Konstitution des Plasmons. Mit 12 Textabbildungen	1
WANGENHEIM, K.-H. Frhr. v., Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Chromosomenzahl und Kreuzbarkeit bei <i>Solanum</i> -Arten. Mit 15 Textabbildungen	21
KAPPUS, A., Wilde Oenotheren in Südwestdeutschland. Mit 3 Textabbildungen	38
SEYFFERT, W., Untersuchungen über interallele Wechselwirkungen. I. Die unvollständige Dominanz des <i>El</i> -Faktors von <i>A. majus</i> . Mit 1 Textabbildung	56
BENZ, G., Untersuchungen über die Wirkung der Letalfaktoren <i>Letal-Bluter</i> ( <i>lbl</i> ) und <i>Letal-Polymorph</i> ( <i>lpm</i> ) von <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 16 Textabbildungen	78
MUNDY, K.-W., Zur Frage des Einflusses von Röntgen- und UV-Strahlen auf die Mutationsrate des Tabakmosaikvirus nach Bestrahlung reiner Präparate. Mit 1 Textabbildung	115
WITTMANN, H. G., Untersuchungen über die Bedeutung von Temperatur und genetischer Konstitution für die Mutabilität von Bakteriophagen	128
BERGFELD, R., Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen verschiedener Blattformmutanten der Sippe 50 von <i>Antirrhinum majus</i> L. Mit 14 Textabbildungen	145
<b>Kurze Mitteilung</b>	
FRANKE, G., Die Zytologie der Ascusentwicklung von <i>Podospira anserina</i> . Mit 1 Textabbildung	159

### Aufnahmebedingungen

Der Inhalt der Arbeit soll dem Gebiet der allgemeinen oder speziellen Genetik, der Cytogenetik, der Grenzfragen der Entwicklungsphysiologie und Genetik, der biophysikalischen Grundlagen der Genetik oder der experimentellen Evolutionsforschung angehören. Arbeiten aus den angewandten Gebieten der Tier- und Pflanzenzüchtung oder der Humangenetik werden nur aufgenommen, wenn die Ergebnisse auch für die Grundlagenforschung wichtig sind.

Die eingereichten Manuskripte müssen völlig druckfertig sein. Der Verlag übernimmt Korrekturkosten nur bis zur Höhe von 10% der Satzkosten. Die Manuskripte sind so kurz und übersichtlich wie möglich zu fassen. Außer der deutschen Sprache kann auch eine der anderen drei Kongreßsprachen verwendet werden.

Die für Petitsatz vorgesehenen Manuskriptteile sind am Rande mit einem senkrechten Strich und Hinzufügung des Buchstabens p zu kennzeichnen.

Autorennamen sind im Manuskript mit großen Buchstaben zu schreiben oder doppelt zu unterstreichen.

Lateinische Tier- und Pflanzennamen, Gensymbole und mathematische Formeln sollen *kursiv* gedruckt werden und sind im Manuskript gewellt zu unterstreichen, ebenso weitere Hervorhebungen im laufenden Text. Gesperrter Druck wird nicht ausgeführt.

Literaturhinweise sind im Text durch den Namen des Autors mit der Jahreszahl der Veröffentlichung, z.B. Sax 1947, anzuführen; am Schluß der Arbeit ist ein nach Autorennamen alphabetisch geordnetes Literaturverzeichnis zu geben, welches Titel der Arbeit, Titel der Zeitschrift, Bandzahl, Seitenzahl und Jahreszahl enthält; z.B. Sax, K.: Temperature effects on X-ray induced chromosome aberrations. *Genetics* 32, 75 (1947).

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, zu bevorzugen sind durch Strichätzung reproduzierbare Figuren. Diagramme sind als Bleistiftzeichnungen einzureichen. Abbildungsbeschriftungen sind ebenfalls nur mit Bleistift anzugeben. Die Abbildungen sind getrennt vom Text auf besonderem Bogen einzureichen. Die Abbildungsunterschriften gehören dagegen zum Text und sind dem Manuskript beizugeben.



# Klinische Konstitutionslehre

(Sonderausgabe aus dem Handbuch der inneren Medizin, vierte Auflage, Band VI/1).

Von Professor Dr. med. Friedrich Curtius, Chefarzt der Medizinischen Klinik des Städtischen Krankenhauses Ost, Lübeck. Mit 221 Abbildungen. VI, 361 Seiten  
Gr.-8°. 1954. Ganzleinen DM 58.—

Aus den Besprechungen: Der Autor befaßt sich eingangs mit den geschichtlichen und begrifflichen Grundlagen der Konstitutionsforschung, geht zu den Erscheinungsformen und zur Typologie der Konstitution über, das gesamte vorhandene Schrifttum sorgfältig ordnend. Er betont nachdrücklich, daß die Habitusdiagnostik nur einen kleinen Teil der Konstitutionslehre darstellt, daß neben den normalen Varianten die pathologischen stehen. Die Konstitutionsforschung verlangt eine Erweiterung, die nur von den klinischen Beobachtungen ausgehen kann. Alte und neue Wege werden einander gegenübergestellt und an der Hand eines reichen Materials kritisch erörtert. Es geht darauf hinaus, die wichtigsten Gesichtspunkte einer *Konstitutionsdiagnose* zusammenzufassen. „Das bezieht sich nicht nur auf unmittelbare greifbare Stoffe wie Anthropometrie, Variationsstatistik, Erbanalyse, sondern auch auf Wissensgut, das nur im klinischen und poliklinischen Unterricht oder noch besser in der langfristigen Unterweisung in gemeinsamer ärztlicher Arbeit gewonnen werden kann.“ So vielgestaltig wie die individuellen Ausprägungen des Einzelmenschen sind auch die Methoden der *Konstitutionstherapie*, d. h. „einer Behandlung, die bestrebt ist, die erb- wie umweltbedingten Normalabweichungen der persönlichen Verfassung günstig zu beeinflussen, bzw. die konstitutionelle Komponente von Erkrankungen zu behandeln“. — „Eine Vertiefung der oft laienhaft oberflächlichen Konstitutionsforschung wird deshalb nicht nur theoretischen Fragen nutzbar sein, sondern gerade da Erfolge zeitigen, wo die Hauptaufgabe des Arztes liegt, in der Behandlung der Kranken.“ — Dieses vortrefflich ausgestattete, mit reichen Literaturangaben versehene Werk verdient die weitgehendste Beachtung und Verbreitung. Es gehört ganz besonders in die Hand jedes praktischen Arztes und jedes Klinikers.

„Mitteilungen der Anthropologischen Gesellschaft in Wien“

... Das Buch von Curtius erfüllt alle Wünsche; das Literaturverzeichnis bringt die gesamte einschlägige Literatur. Es ist ein in jeder Hinsicht ausgezeichnetes Buch, das die Fragen der Konstitution nach allen Richtungen behandelt, die interessieren können.

„Wiener klinische Wochenschrift“

---

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG